АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XXII. ВЫП. 1

ЯНВАРЬ—ФЕВРАЛЬ

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1953

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
10 JUN 1953

МИКРОБИОЛОГИЯ

Редактор чл.-корр. АН СССР А. А. Имшенецкий

Секретарь Я. И. Раутенштейн

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Н. Д. Иерусалимский, Н. А. Красильников,
Е. Н. Мишустин, К. И. Рудаков, М. В. Федоров, В. Н. Шапошников

ПО ВСЕМ ВОПРОСАМ ПОДПИСКИ НА ЖУРНАЛ «МИКРОБИОЛОГИЯ» ОБРАЩАТЬСЯ ПО АДРЕСУ: МОСКВА, Б. ЧЕРКАССКИЙ ПЕР., 2 КОНТОРА «АКАДЕМКНИГА»

Рукописи направлять по адресу:
Москва, Волхонка, 14, Издательство Академии наук СССР,
редакция журнала «Микробиология»

АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XXII

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1953

РАСПРОСТРАНЕНИЕ АКТИНОМИЦЕТОВ-АНТАГОНИСТОВ В ПОЧВАХ

Н. А. Красильников, А. И. Кореняко, О. И. Артамонова

Антагонистические взаимоотношения микроорганизмов, населяющих почву и другие естественные субстраты, с каждым годом привлекают все большее число исследователей-микробиологов, почвоведов, растениеведов, фитопатологов, ботаников, медиков и других специалистов.

Интерес к микробам-антагонистам особенно усилился после того, как были открыты антибиотики. Как уже отмечалось нами ранее (1), актиномицеты по количеству и разнообразию антагонистов занимают первое место среди микробного населения почвы. Они являются богатейшим арсеналом, откуда можно черпать различные антибиотические вещества.

В данной статье мы приводим фактический материал по распространению актиномицетов-антагонистов в разных природных субстратах и в первую очередь в почвах.

На протяжении ряда лет нами были обследованы многочисленные почвы ряда мест Советского Союза. Из почв были выделены тысячи культур актиномицетов, которые подвергались всестороннему изучению.

При изучении степени распространения отдельных групп актиномицетов мы пытались установить закономерные связи их местообитания с субстратом, с типом и характером почв, а также выявить зависимость их развития от эколого-географических или климатических особенностей.

Методы выделения и изучения актиномицетов-антагонистов

При выделении из природных субстратов актиномицетов мы пользовались следующими методами и приемами. Навеска почвы (или другого субстрата) весом в 1 г помещалась в колбу, содержащую 100 мл стерильной водопроводной воды, встряхивалась в течение 5 минут, затем из этой взвеси производились последовательные разведения 1 : 10, 1 : 100, 1 : 1000 и 1 :10 000. Последнее разведение применялось только в тех случаях, когда почвы были очень богаты микрофлорой. Чаще мы пользовались разведением 1 : 1000. Одна капля этого разведения (0,05 мл) наносилась в чашку Петри на агаризованную питательную среду и затем шпателем размазывалась по всей ее поверхности. Из каждого образца почвы производился посев в трех повторных чашках. В качестве питательных сред мы применяли МПА, картофельный агар и синтетическую СР I [1]. (состав этих сред приведен в книге Красильникова [11]).

Засеянные чашки помещались в термостат при 25° на 5—7, а иногда на 10 суток.

После этого производился тщательный просмотр всей выросшей микрофлоры и актиномицетов в отдельности.

Актиномицеты отсевались в пробирки и подвергались предварительному исследованию на антибактериальные свойства.

---

[1] Синтетическая среда в дальнейшем будет обозначаться, как СР I:
Водородная вода — 1000 мл, KNO_3 — 1,0 г, K_2HPO_4 — 1,0 г, $MgCO_3$ — 0,5 г, NaCl — 0,2 г, $FeSO_4$ — 0,001 г, $CaCO_3$ — 0,5 г, глюкоза — 20,0 г, агар-агар — 15,0—20,0 г, pH 7,0—7,2.

Антагонистические свойства актиномицетов изучались двумя методами: а) методом поверхностных заливок выросших колоний актиномицетов и б) методом изолированного отсева каждой колонии с последующим испытанием их на антагонизм.

Техника первого метода такова: выросшие на агаризованной среде в чашке Петри колонии актиномицетов заливаются тонким слоем МПА с примесью бактерий тест-организма. Для этого предварительно в пробирку с расплавленным и охлажденным до 50° мясо-пептонным агаром вносится одна капля односуточной культуры тест-организма (стафилококка, кишечной палочки или другого организма), тщательно перемешивается и выливается на поверхность агара с колониями актиномицетов. Чашки оставляют на 10—12 часов при низкой температуре (10—15°) с тем, чтобы антибактериальное вещество успело продиффундировать в агар прежде, чем разрастается тест-организм, затем инкубация чашек ведется при 37°. Через 24 часа по наличию зон отсутствия роста бактерий вокруг колоний актиномицетов определяется антибактериальное действие и подсчитывается общее число антагонистов. Затем эти колонии после очистки их от клеток тест-организма отсеваются в пробирки. Проникая в колонии актиномицета через слой агара, насыщенный бактериями тест-организма, клетки последнего могут захватывать и загрязнять отсеваемую культуру. Очистку их следует производить посевом на СР I в чашке Петри и затем из отдельных колоний изолировать чистые культуры.

Второй способ выявления актиномицетов-антагонистов заключается в следующем: колонии актиномицетов, выросшие в чашках Петри, все без исключения отсеваются в пробирки на МПА или на картофельный агар (можно и на другую питательную среду, благоприятную для образования антибиотического вещества). Спустя 7—10 дней выросшие культуры испытываются на антибактериальные свойства методом наложения комочков. Для этого вырезается частица культуры вместе с агаром и накладывается на поверхность МПА, засеянную перед этим тест-организмом. По наличию зон угнетения роста тест-культуры устанавливают антагонистическую способность испытуемой культуры.

Как показывает опыт, оба метода вполне пригодны для указанных целей и дают примерно одинаковые результаты (табл. 1).

При первом способе учета не требуется предварительного отсева культур, антагонисты выявляются непосредственно в чашках при рассеве почвенной взвеси, что значительно сокращает сроки определения.

Таблица 1

Сравнительная оценка методов количественного учета актиномицетов-антагонистов в почве

(Число колоний в чашке Петри)

Образцы почв	Среда, на которой выращиваются актиномицеты	Разведения почв	Метод заливок			Метод отвивок		
			всего колоний актиномицетов	из них антагонистов		всего колоний актиномицетов	из них антагонистов	
				к B coli.	к Staph. 209		к B. coli	к Staph 209
Из-под цитрусов (Гагры)	Картофельный агар	1:1 000	30	12	16	25	10	15
		1:10 000	5	2	4	8	3	6
Из-под лишайников (Памир)	То же	1:1 000	4	3	4	4	2	4
	СР I	1:1 000	5	3	4	4	4	4
Огородная (Москва)	СР I	1:1 000	53	18	29	49	16	26

Зато приходится после очищать выделяемые актиномицеты-антагонисты от бактерий тест-организма. При втором способе приходится производить отсевы многочисленных колоний и ожидать 7—10 дней, когда они вырастут и накопят достаточное количество антибактериальных веществ.

В каждом отдельном случае приходится выбирать тот или другой способ учета или применять оба одновременно.

Сравнительная оценка этих двух методов, проведенных на двух тест-организмах Staph. aureus и B. coli, дана в табл. 1.

Как видно из приведенных данных, оба метода равноценны по результатам. Тем и другим методом обнаруживаются одни и те же количества актиномицетов-антагонистов.

Указанными методами нами были обследованы около 280 почвенных образцов, 10 образцов речных и озерных илов, 6 образцов морских илов, 3 образца морского песка, 12 образцов горных пород — поверхностный слой базальта, гранита, туфа, известняков, 18 образцов лишайников.

Почвенные образцы распределяются в следующем порядке:

Черноземы — северокавказские, зональная опытная ст. Дзауджикау; почвы Черниговской обл., Носовская опытная ст.; почвы Киевской обл. Мироновская опытная ст.; почвы приазовского района и другие	18 образцов
Черноземовидные (Куйбышевск. обл., Кутулук)	9 „
Каштановые почвы — Заволжье	10 „
Каштановые почвы Грузии	4 образца
Сероземные почвы — Вахшская долина Таджикск. ССР,: Голодная степь Узбекской ССР	40 образцов
Бурые почвы. Армения	3 образца
Красноземы, Кавказ	5 образцов
Подзолистые почвы — подмосковные (Горки Ленинские, ст. Зеленоградская Сев. ж. д. и др.)	40 образцов
Подзолистые почвы — сибирские, соликамские и др.	10 „
Торфянистые почвы Белорусской ССР	10 „
Высокогорные почвы Памира, Тян-Шаня, Кавказа	30 „

Среди исследованных почв были следующие: окультуренные и целинные, удобренные и неудобренные, засоленные и незасоленные, покрытые растительным покровом (монокультурами и сменными культурами растений). Образцы брались либо только в поверхностном слое, либо по горизонтам до 1 м и более глубины.

Из всех почвенных образцов выделено около 3000 культур актиномицетов, принадлежащих к разным видам. Из этого количества антагонистов было более 700 культур (30%), из них действующих против кишечной палочки — 300 культур (9%).

Актиномицетов, принадлежащих к виду Actinomyces globisporus, среди выделенных было свыше 250 культур, что составляет в среднем около 8%.

Само собой разумеется, что распределение актиномицетов-антагонистов в почвах неравномерное. Как в абсолютном, так и в процентном отношении число их резко меняется в зависимости от типа и состава почвы, от ее плодородия. Как показано на табл. 2, имеются почвы, в которых вообще мало актиномицетов, но среди них большой процент антагонистов. Южные черноземы (Киевская обл.) и подзолы подмосковные содержат примерно равные количества актиномицетов, а антагонистов в первых в три раза больше (43%), чем во вторых (13%). Сероземы содержат много актиномицетов-антагонистов, как в абсолютном числе, так и в относительном (в процентах). Однако антагонисты эти преимущественно действуют только против грамположительных бактерий; число антагонистов, угнетающих грамотрицательные бактерии, в сероземах небольшое, около 6% по отношению всех актиномицетов, обнаруживаемых в почвенных образцах.

Каштановые почвы Караязской опытной станции (Грузинская ССР) содержат всего-навсего 11% антагонистов, причем эти антагонисты действуют только против грамположительных бактерий.

Мы имели около 300 культур актиномицетов, выделенных из этих почв. Из них ни одна не оказывала угнетающего действия на кишечную палочку.

Лесные почвы Кавказского побережья, содержащие много перегноя, очень богаты актиномицетами, активно подавляющими рост грамотрицательных бактерий. Например, в почве лесов близ Туапсе обнаруживается 60—70% антагонистов, из которых более половины или все активны против кишечной палочки. Аналогичные результаты получены при исследовании лесной почвы мыса Пицунды, затем почвы в районах Гагр, Сухуми и др. Всего было нами обследовано около 50 образцов лесных почв Черноморского побережья Кавказа (в зоне Сухуми — Туапсе). Все они содержат большое число — от 40 до 70% актиномицетов-антагонистов, действующих против грамположительных и грамотрицательных бактерий.

Таблица 2

Количественное распределение актиномицетов в почвах Советского Союза

(Число зародышей в 1 г почв в тысячах)

Образцы почв	Всего актиномицетов	Антагонистов			
		всего	в %	из них угнетающие B. coli	в %
Сероземы Средней Азии (Вахшская долина, Голодная степь и др.)	14300	5200	37	840	6
Черноземы (Киевская обл., Черниговская обл. и др.)	3500	1520	43	880	24
Черноземы Кавказа	1040	260	25	220	21
Южные лесные почвы (Кавказское побережье)	1400	420	30	380	27
Каштановые почвы Заволжья	1000	1340	22	520	8
Каштановые почвы (Грузия), оп. ст. Караязы	2480	280	11	0	—
Подзолистые почвы Средней полосы СССР	4200	780	18	140	3
Подзолистые подмосковные	2900	380	13	60	2
Торфянистые	1480	80	5	20	1,3
Ил озерный	340	200	60	140	41

Очень большое количество актиномицетов обнаруживается в илах некоторых озер, причем актиномицеты этих субстратов также подавляют активно грамположительных и грамотрицательных бактерий.

Морские илы вне зоны прибрежного влияния не содержат лучистых грибков, или содержат их очень мало.

Торфянистые почвы содержат очень мало актиномицетов-антагонистов. Из 148 культур только 5 действовали против грамположительных бактерий, и из них только одна подавляла кишечную палочку. В 5 образцах минских торфянистых почв мы не обнаружили вообще ни одного актиномицета-антагониста.

Как правило, наибольшее количество актиномицетов-антагонистов обнаруживается в пахотном и подпахотном горизонтах на глубине 0—45 см. По мере дальнейшего углубления число актиномицетов вообще становится меньше, в том числе и антагонистов (табл. 3). На таблице приведены данные анализа каштановой почвы Заволжья.

Таблица 3

Распространение актиномицетов в почвах по горизонтам

(Число колоний в чашке. Посев 1 капли из разведения 1 : 1000)

Горизонт в см	Всего актиномицетов	Из них антагонистов	
		всего	угнетающих B. coli
0—10	22	3	0
10—20	31	5	1
20—40	36	8	0
40—60	15	2	0
60—90	1	0	0
90—120	0	—	—

Такие же результаты были получены при исследовании горных почв Армении и сероземов Вахшской долины.

Фактор засоления оказывает большое влияние на развитие и распределение в почвах актиномицетов-антагонистов.

По мере засоления почвы общее число актиномицетов заметно падает, а процентное отношение антагонистов возрастает; например, анализы почвы одного и того же участка Вахшской опытной станции (Таджикской ССР) дали следующие результаты (табл .4).

В незасоленных делянках на 106 колоний актиномицетов, выросших в чашке Петри, приходится 52 колонии антагонистов, т. е. 50%; из них 8 подавляют рост кишечной палочки (8,5%).

Таблица 4

Влияние засоления почв на развитие актиномицетов

(Число колоний в чашке при одних и тех же условиях опыта)

Образцы почв	Всего актиномицетов	Из них антогонистов			
		всего		угнетающих B. coli	
		число	в %	число	в %
Незасоленные делянки	106	52	50	8	8,5
Слабо засоленные . .	72	46	64	8	11
Средне засоленные .	54	44	83	12	22
Сильно засоленные .	42	36	86	10	24

В слабо засоленной почве число антагонистов достигает 64%, а в сильно засоленной 86%, при падении общего числа актиномицетов с 106 до 36 колоний в чашке Петри.

Отрицательное влияние засоленности не снижается растительным покровом. Количество актиномицетов убывает по мере засоления почв независимо от того, произрастают ли на них кукуруза, райграс, хлопчатник, люцерна или другие растения. На табл. 5 даны цифровые показатели количественного учета антагонистов в почвах разной засоленности и находившиеся под 2—3-летней люцерной, под хлопчатником-старопашкой (7—9-летней монокультуры).

В таблице отмечается некоторое увеличение процента антагонистов в почве из-под хлопчатника. Однако это увеличение, сравнительно не-

Таблица 5

Развитие актиномицетов-антагонистов в засоленных почвах под разным растительным покровом

(Число колоний в чашках Петри при высеве 1 капли из разведения 1 : 1000)

Образцы почв	Люцерна			Хлопчатник		
	всего актиномицетов	из них антагонистов		всего актиномицетов	из них антагонистов	
		всего	в том числе угнетающих B. coli		всего	в том числе угнетающих B. coli
Незасоленные	43	16	2	44	20	3
Слабо засоленные	40	17	1	27	9	2
Средне засоленные	21	10	2	30	5	0
Сильно засоленные	20	9	2	18	2	0
Солончак	18	9	1	17	4	0

большое, в пределах погрешности анализа. Для уточнения требуются дальнейшие наблюдения и исследования.

Растительный покров, повидимому, вообще не оказывает специфического воздействия на развитие и накопление в почве актиномицетов-антагонистов. Нами были обследованы почвы Вахшской долины, находившиеся под клевером и хлопчатником, затем каштановые почвы Грузинской ССР (Караязы) из-под картофеля, люцерны, кукурузы и другие (табл. 6).

Таблица 6

Влияние растительного покрова на распространение актиномицетов-антагонистов в южных почвах

(Число колоний в чашке Петри при высеве 1 капли. 0,05 мл из разведения 1 : 1000)

	Район	Всего актиномицетов	Из них антагонистов	
			всего	в том числе угнетающих B. coli
Серозем				
из-под трехлетней люцерны . . .	Вахшская долина	43	16	2
„ хлопчатника-старопашки .	То же	44	20	3
Каштановые				
„ картофеля	Караязы	4	1	0
„ люцерны	„	8	1	0
„ пшеницы	„	26	1	0
„ кукурузы	„	11	2	0
„ баклажан	„	28	3	0
„ подсолнечника	„	22	5	0
Пар	„	25	1	0

Данные анализа подзолистых почв — почвы опытного поля ВАСХНИЛ (Горки Ленинские под Москвой), находившиеся под разными растениями под картофелем, клевером, пшеницей, другими, а также почвы из-под леса с разным составом древесных пород приведены в табл. 7.

Таблица 7

Влияние растительного покрова на накопление актиномицетов-антагонистов в подзолистых подмосковных почвах

(Число колоний в чашке Петри при высеве 1 капли из разведения 1 : 1000)

Растения, культивируемые на участке	Район	Всего актиномицетов	Из них антагонистов	
			всего	в том числе угнетающих B. coli
Клевер трехлетний .	Горки Ленинские	33	6	0
Пшеница	То же	26	0	0
Картофель	„ „	20	5	1
Помидоры	„ „	26	6	4
Баклажаны	„ „	24	11	2
Кок-сагыз	„ „	32	7	0
Гречиха	„ „	45	4	0
Ель	Ст. Зеленоградская Сев. ж. д.	19	1	0
Ольха	То же	32	5	0
Дуб	„ „	22	3	0
Осина	„ „	23	6	3
Береза	„ „	18	0	0

Лесные почвы брались на таких участках, которые были покрыты одним видом древесных пород,— участок ели (ельник), участок березы (березняк) и т. д. Возраст деревьев 15—20 лет.

Как видно из таблиц, растения не оказывают заметного влияния на количественный и качественный состав актиномицетов. Наблюдаемые небольшие отличия в цифровых показателях непостоянны. В подзолистых почвах (Горки Ленинские), как будто намечается некоторое влияние картофеля, помидоров и баклажан на накопление в почве антагонистов. Однако это требует дальнейшей проверки.

Ранее Чернышева (2) обследовала картофельные поля Картофельного института (под Москвой) и установила, что хотя актиномицеты обильно развиваются под картофелем, но антагонистов среди них очень мало.

Сопоставляя данные количественного учета актиномицетов в почвах, можно отметить, что степень развития и распространения этих организмов находится в тесной связи с перегноем. Чем богаче почвы гумусом, чем больше в них перегноя, тем обильнее развиваются в них актиномицеты. Однако процент актиномицетов-антагонистов может в таких почвах и не превышать процента актиномицетов-антагонистов в почвах, бедных гумусом (табл. 2).

Надо полагать, что обильное развитие антагонистов в перегнойных почвах обусловлено богатством бактериальной флоры, с которой актиномицетам приходится вести борьбу. Как известно из литературных данных и наших собственных исследований (мы во всех случаях изучения почвенных образцов одновременно с актиномицетами учитывали и количество бактерий), перегнойные почвы содержат большое количество бактериальной флоры. Много там антагонистов. Впрочем, это не всегда так бывает. Нередко в почвах, богатых бактериями, актиномицетов-антагонистов очень мало или совсем нет. Быть может, специфика микробного состава почвы определяет и количественное соотношение актиномицетов-антагонистов, действующих только против грамположительных или против грамотрицательных и грамположительных бактерий.

Тот факт, что растительный покров не оказывает влияния на развитие и на накопление в почвах актиномицетов, повидимому, объясняется тем, что в ризосфере вегетирующих растений они не могут развиваться. Известно, что актиномицеты в ризосфере растущих растений не обнаруживаются, но они обильно развиваются на растительных полусгнивших остатках. Когда бактериальная и грибная флора уничтожает легко усвояемые растительные вещества — углеводы, жиры и белки, когда остается только растительный остов — клетчатка и лигнин и продукты жизнедеятельности бактерий, тогда начинают развиваться на них актиномицеты. Надо полагать, что клетчатка, лигнин по своему составу у разных видов растений мало отличаются и потому не специфичны как питательный или экологический фактор для актиномицетов.

Так ли это или нет, покажут будущие исследования. Несомненно только то, что качество почвы является определяющим фактором в распространении и накоплении антагонистов в них.

В заключение мы можем сказать, что развитие актиномицетов-антагонистов обусловлено не столько географическим фактором, сколько экологическим, т. е. свойством субстрата и внешними условиями (температура, влажность и др.) данного места. Активные формы встречаются в равных количествах как на севере, так и на юге, как в почвах восточных, так и западных районов.

Приведенные данные представляют наши предварительные исследования почв. Они показывают, что для установления закономерностей распространения антагонистов необходимы более тщательные исследования почв, с бо́льшими повторностями. Микробиологические наблюдения почв следует вести в разные времена года и т. д. Иными словами, необходимо учитывать не только разнокачественность одной и той же почвы, но и динамику изменения в зависимости от внешних условий (температуры, влажности) и окультуренности.

Выводы

1. Приведены результаты исследования распространения актиномицетов-антагонистов в некоторых почвах Советского Союза.
2. Разные почвы содержат различное количество актиномицетов-антагонистов. Очень мало или совсем не содержат антагонистов торфянистые почвы, несколько больше имеют их подзолы, затем каштановые почвы и др. (табл. 2).
3. Богаты антагонистами почвы перегнойные, содержащие много органического вещества.
4. Сероземы содержат много антагонистов, которые действуют преимущественно против грамположительных бактерий.
5. Растительный покров не оказывает заметного влияния на количественное развитие актиномицетов-антагонистов в почвах.
6. Фактор засоления снижает общее число актиномицетов в почве. Процентное отношение антагонистов, однако, сохраняется или даже увеличивается.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 18.XI.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Красильников Н. А. Актиномицеты-антагонисты и антибиотические вещества. Изд. АН СССР, 1950.
2. Чернышева О. П. Актиномикоз картофеля. Диссертация. 1950. Институт микробиологии АН СССР.

НАБЛЮДЕНИЯ ЗА ЛИЗИСОМ АКТИНОМИЦЕТА ПОД ВЛИЯНИЕМ АКТИНОФАГА ПРИ ПОМОЩИ ЭЛЕКТРОННОГО МИКРОСКОПА

Я. И. Раутенштейн, А. С. Тихоненко, В. И. Бирюзова и *А. М. Золковер*

Процесс распада бактериальной клетки под влиянием бактериофагов изучался многими исследователями.

Но до настоящего времени в литературе нет работ с описанием электронно-микроскопической картины распада мицелия актиномицетов под влиянием актинофага, несмотря на то, что о наличии фаголизиса у актиномицетов известно с 1934 г., когда впервые об этом появилась работа советского ученого Дмитриева [1]. Красильниковым [2] описана микроскопическая картина растворения колоний некоторых актиномицетов и проактиномицетов, а также процесс лизиса их мицелия в результате автолиза.

В работе Крисса, Рукиной и Исаева [4] имеются данные о результатах изучения строения нормального мицелия актиномицетов при помощи электронного микроскопа. В некоторых работах по актинофагии приводятся только фотоснимки актинофагов [7, 8]. Между тем изучение процесса распада мицелия под влиянием фага представляет несомненный интерес для понимания некоторых сторон взаимоотношения клетки с фагом и механизма образования устойчивых к фагу форм.

Целью настоящей работы являлось изучение в электронном микроскопе процесса распада мицелия актиномицета под влиянием актинофага. Для работы была взята чувствительная к актинофагу культура Act. globisporus и специфический к ней актинофаг.

При выборе среды для выращивания актиномицета и для фаголизиса мы остановились на глюкозо-аспарагиновой среде следующего состава: глюкозы — 1,0 г, аспарагина — 0,05 г, K_2HPO_4 — 0,5 г, NaCl — 0,5 г, кукурузного экстракта — 0,1—0,2 г, воды дестиллированной — 100 мл. Стерилизация среды производилась фильтрованием через фильтр Зейтца. Указанная среда благоприятна для роста актиномицета и для проявления литического действия актинофага. Преимущество этой среды заключается в том, что на ней рост актиномицета и процесс лизиса его под влиянием актинофага протекают медленнее, чем на средах, богатых белком, что облегчает наблюдения за отдельными этапами этого процесса. Выращивание производилось в условиях глубинного роста в колбах, установленных на качалке, при температуре 26°. При этих условиях, как показали наблюдения, фаголизис протекает полнее, чем при поверхностном выращивании.

Опыты с фаголизисом ставились в двух вариантах. В одних опытах актинофаг вносился в среду одновременно со спорами актиномицета; в других — актинофаг добавлялся к уже выросшей 24-часовой культуре актиномицета. Контролем служила культура актиномицета, выращиваемая на той же среде, но без актинофага. Диализ проводился через коллодийные пленки по методу, описанному Криссом, Бирюзовой и Золковером [3], и обычно длился 15—16 часов.

Фиксация препаратов для электронно-микроскопических наблюдений производилась высушиванием. Для этого материал из исследуемых колб переносился петлей непосредственно на коллодийные пленочки, натянутые на специальные металлические сеточки, применяемые для приготовления электронно-микроскопических препаратов.

Приготовленные указанным способом препараты высушивались на воздухе при комнатной температуре и затем ставились на диализ.

Результаты опытов

Морфологические особенности актинофага, использованного в наших опытах для лизиса культуры Act. globisporus, показаны на рис. 1.

Из представленной фотографии явно видно, что частица этого актинофага состоит из головки овальной формы и отростка. Головка актинофага не является гомогенной, а состоит из более светлой центральной части и двух более уплотненных телец на полюсах.

Величина головки актинофага при напылении нихромом равна примерно около 80—85 мμ, в диаметре по длинной ее оси; длина отростка примерно в два раза превышает длину головки.

При рассмотрении в электронном микроскопе спор культуры Act. globisporus видно, что они преимущественно цилиндрической формы (рис. 2); перед прорастанием споры набухают, при этом они округляются (рис. 3) или сохраняют свою цилиндрическую форму (рис. 4).

На рис. 5 показан нормальный мицелий культуры в возрасте 24 часа. Видно, что в этом возрасте он гомогенной структуры с отдельными, более светлыми участками.

При внесении в глюкозо-аспарагиновую среду спорового материала актиномицета одновременно с актинофагом наблюдается следующая картина. Вначале споры набухают и прорастают, как в контроле, т. е. в среде без актинофага.

Часть спор тотчас же после прорастания и образования короткого мицелия подвергается лизису (рис. 6).

Другая часть спор некоторое время после прорастания продолжает свой рост и образует вполне нормальный ветвистый мицелий. На рис. 7 показана такая культура в возрасте 21 часа.

Выросший в среде с актинофагом мицелий может достигнуть разных размеров и на разных стадиях своего развития подвергнуться литическому действию актинофага.

Лизис мицелия, выросшего из спор в присутствии в среде актинофага, протекает так же, как и лизис взрослого мицелия, к которому фаг прибавлен через 24 часа после посева спор. Поэтому описание лизиса мицелия для обоих этих случаев дается общее.

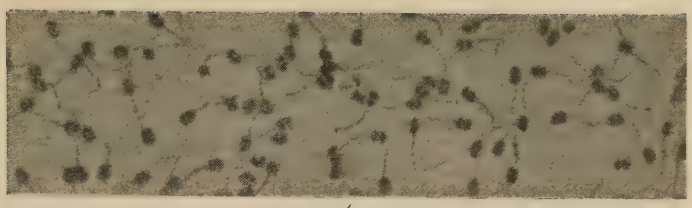
Заметные в электронном микроскопе изменения выросшего мицелия актиномицета, к которому прибавлен актинофаг, при выращивании на глюкозо-аспарагиновой среде обычно можно обнаружить через час после внесения актинофага.

Эти изменения начинаются с отдельных участков каждой гифы, не захватывая сразу всю гифу в целом. Можно заметить, как на том месте гифы, где начинается проявление лизиса, вначале наступает некоторое утолщение ее, протоплазма уплотняется и отходит несколько от оболочки. Это видно на рис. 8, где показано состояние участка мицелия через час после воздействия актинофага.

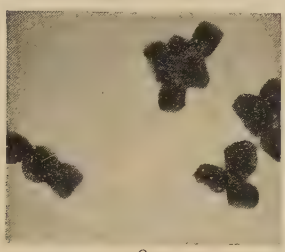
На рис. 9 и 10 запечатлены картины состояния мицелия, которые можно наблюдать через один час воздействия фага, показывающие дальнейшее развитие процесса лизиса.

На отдельных участках гиф протоплазма теряет свою гомогенность, появляются места с заметной зернистостью (рис. 9). К этому же времени имеются отдельные гифы, у которых процесс лизиса развился еще дальше. На рис. 10 показано состояние такого мицелия. Отчетливо видна резко выраженная ячеистая зернистость и наличие участков с совершенно прозрачным содержимым.

О характере дальнейшего развития процесса лизиса можно судить из



1



2

3

4

5

6

7

8

9

10

Рис. 1. Актинофаг культуры Act. globisporus. Напыление нихромом. Рис. 2. Споры культуры Act. globisporus. Рис. 3. Прорастание спор Act. globisporus. Рис. 4. То же. Рис. 5. Нормальная 24-часовая культура Act. globisporus. Рис. 6. Проросшая в присутствии актинофага спора Act. globisporus, подвергшаяся лизису после образования короткого мицелия. Рис. 7. Мицелий, выросший из споры в среде с актинофагом, в возрасте 21 часа. Рис. 8. Мицелий Act. globisporus после 1 часа воздействия актинофагом. На одном из участков гифы начался лизис. Рис. 9. Мицелий Act. globisporus после 1 часа воздействия актинофагом. Рис. 10. То же

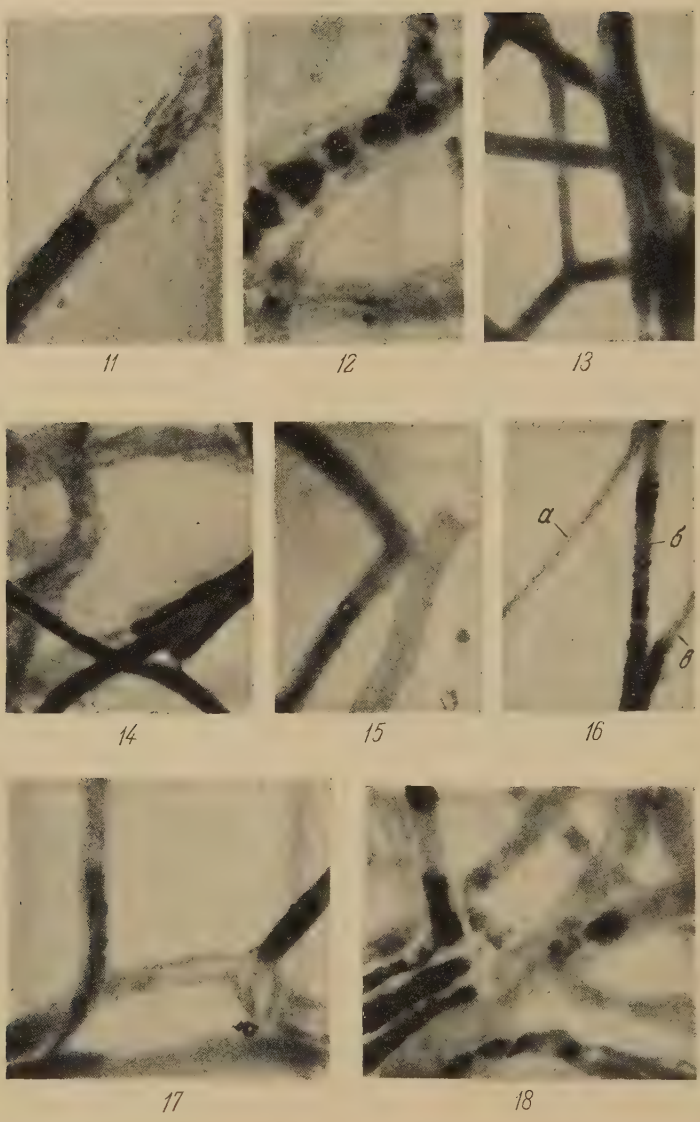


Рис. 11. Гифа мицелия Act. globisporus после 2 часов воздействия актинофагом. Рис. 12. Мицелий Act. globisporus после 3 часов воздействия актинофагом. Рис. 13. Мицелий в возрасте 27 час. в среде без актинофага (контроль). Рис. 14. Мицелий Act. globisporus после 4 часов воздействия актинофагом. Рис. 15. То же. Рис. 16. Отдельные гифы мицелия Act. globisporus после $4^1/_2$ часов воздействия актинофагом. Рис. 17. То же после 5 часов воздействия актинофагом. Рис. 18. То же после $8\ ^1/_2$ часов воздействия актинофагом

рис. 11, показывающего состояние некоторых гиф через 2 часа воздействия на них актинофагом. Ясно видно, как участок с мицелием нормального вида резко переходит в лизированный участок, у которого уже разрушена оболочка и содержимое распалось на бесформенную массу.

Через 3—3 $^1/_2$ часа воздействия актинофага многие гифы находятся в состоянии полного распада, в некоторых сохранились отдельные небольшие участки мицелия с зернистым содержимым, находящимся на разных стадиях распада (рис. 12).

Мицелий в контрольных колбах (без актинофага) к этому времени полностью сохранил свою гомогенную структуру (рис. 13).

Через 4 часа воздействия актинофагом увеличивается количество полностью лизированных гиф, но среди них попадаются отдельные гифы, вполне сохранившие нормальный мицелий (рис. 14).

Рис. 15 и 16 показывают состояние отдельных гиф культуры актиномицета после 4$^1/_2$-часового воздействия актинофагом.

На рис. 15 видим части двух разных гиф: у одной из них процесс лизиса на одном конце закончился разрывом оболочки и распадом на бесформенную массу, а другая часть еще сохранила отдельные участки нормального на вид мицелия.

На рис. 16 иллюстрируются три гифы, находящиеся на разных ступенях лизиса. На одной из них (*в*) сохранился небольшой участок с нормальным мицелием, переходящим в лизированный участок; другая гифа (*а*), почти полностью лизирована, а третья гифа (*б*) содержит в себе весьма характерные зернистые включения, о природе которых трудно судить. Через 5 часов контакта актинофага с мицелием в препаратах можно наблюдать наряду с лизированным гифами и гифами, полностью распавшимися на бесформенную массу, также отдельные участки гиф, полностью сохранивших свой нормальный вид. Рис. 17 демонстрирует состояние некоторых гиф после 5 часов воздействия актинофагом. На этом рисунке отчетливо видно, как нормальный участок одной гифы круто обрывается и резко отграничен от следующей полностью лизированной части той же гифы.

И через 8$^1/_2$ часов воздействия актинофага на мицелий, когда количество полностью распавшихся гиф уже весьма значительно, имеются отдельные, вполне сохранившиеся участки гиф (рис. 18).

Более продолжительные наблюдения за процессом лизиса актиномицета показывают, что одновременно с полным распадом одних гиф наблюдается появление молодого мицелия за счет вторичного роста. Вторичный рост возникает за счет прорастания отдельных участков мицелия, приобретших устойчивость против литического действия актинофага. Это положение подтверждается также наблюдениями, проведенными нами совместно с Пешковым, Сорокиной, Чередниченко и Шарковой за цитологическими изменениями мицелия Act. globisporus при лизисе его под влиянием актинофага, выполненными при помощи обычного светового микроскопа [6].

Выводы

Проведены наблюдения в электронном микроскопе над морфологией актинофага Act. globisporus и за вызываемым им процессом лизиса мицелия данного актиномицета. При этом выявлено следующее.

Частица актинофага Act. globisporus состоит из головки овальной формы и отростка. Головка исследованного нами актинофага не гомогенна, а состоит из более светлой центральной части и более плотных телец на полюсах.

При совместном выращивании спор актиномицета с гомологичным актинофагом лизис части спор наступает немедленно после прорастания их и образования ими короткого мицелия.

Другая часть спор может сначала прорасти в вполне нормальный на вид ветвистый мицелий, который позднее подвергается лизису. Разные гифы одной и той же культуры подвергаются лизису на разных для каждой гифы этапах ее развития.

Причины этого явления следует искать в неоднородности как спорового, так и мицелиального материала одной и той же культуры.

При воздействии актинофагом на выросший мицелий лизис обычно начинается сначала с отдельных участков гифы, после чего следует лизис соседних участков этой гифы.

Одни гифы лизируются быстро и полностью. На других гифах наблюдаются отдельные участки, более устойчивые, лизис которых наступает позднее. Отдельные же участки некоторых гиф в ответ на воздействие актинофага соответственно видоизменяются, становятся устойчивыми к фагу и дают образование фагоустойчивых культур.

Следовательно, мицелий актиномицетов даже на одной и той гифе может разнородно реагировать на актинофаг.

Образование фагоустойчивых культур происходит за счет качественно видоизмененных отдельных участков мицелия. Эти данные подтверждают положение Лысенко о том, что при превращении старого в новое видоизменяются отдельные участки клетки, а не вся клетка в целом.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 2.II.1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дмитриев С. Ф. Явления диссоциации и спонтанного лизиса в культуре актиномицета. Журн. микроб. и иммуноб., XIII, 289, 1934.
2. Красильников Н. А. Явления автолиза у Actinomycetales. Культуральная и морфологическая картина автолиза. Микробиология, VII, 708, 1938.
3. Крисс А. Е., Бирюзова В. И. и Золковер А. М. Капельный диализ — метод приготовления биологических препаратов для электронной микроскопии. Микробиология, 484, 1948.
4. Крисс А. Е., Рукина Е. А. и Исаев Б. М. Исследования строения актиномицетов с помощью электронного микроскопа. Микробиология, XIV, вып. 172, 1945.
5. Лысенко Т. Д. Работы О. Б. Лепешинской и превращения видов. Литературная газета, № 109 (2827) от 13.IX.1951 г.
6. Пешков М. А., Раутенштейн Я. И., Сорокина М. И., Чередниченко А. Ф. и Шаркова А. С. Цитологические изменения мицелия Act. globisporus при лизисе его под влиянием актинофага. Микробиология, XXI, 665, 1952.
7. Koerber W. L., Greenspan G. a. Langlyke A. Observation on the multiplication of phages affecting Streptomyces griseus. J. Bact., 50, 29, 1950.
8. Wordruff H. B., Nunheimer G. D. a. Lee S. B. A bacterial virus for Actinomyces griseus. J. Bact., 54, 525, 1947.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГРИБА GYMNOASCUS SETOSUS EIDAM

Ю. П. Нюкша

Вид Gymnoascus setosus Eidam известен с 1882 г. и подробно описан Массе и Салмон (Massee a. Salmon [1]) в 1902 г. Имеются сведения, что его неоднократно обнаруживали на гнездах диких пчел и ос, а также в навозе различных животных, в почве.

В литературе имеются указания, что представители сем. Gymnoascaceae не имеют практического значения.

В 1946 г. вид Gymnoascus setosus был обнаружен на библиотечных книгах и выделен в чистую культуру. Гриб оказался чрезвычайно распространенным в библиотеках и в связи с этим был избран объектом для изучения. Gymnoascus setosus является одним из главных разрушителей книг и бумаги. Вызываемые им повреждения выражаются в образовании малиново-красных пятен, которые отличаются большой устойчивостью, а со временем выпадают, так как наступает глубокое разрушение бумаги. Gymnoascus setosus Eidam встречается в библиотеках на самых разнообразных материалах. Колонии гриба на книгах обычно почти незаметны: они имеют вид темносерых, легко снимающихся хлопьев. Первыми признаками присутствия гриба служат пигментные пятна.

Культуральные и микроскопические признаки Gymnoascus setosus Eidam

На сусло-агаре и на бумаге гриб растет довольно медленно. Первоначально появляется пушистый мицелий в виде высокой подушечки; затем наступает спороношение, сопровождающееся образованием темно-коричневых, роговидно разветвленных гиф, образующих шарообразное сплетение, внутри которого заключены сумки. В результате колония постепенно темнеет, а старая культура приобретает черный оттенок с сероватым отливом. На сусло-агаре обычно бывает небольшое пигментообразование, в то время как при развитии на клетчатке гриб обильно выделяет темный малиново-красный пигмент.

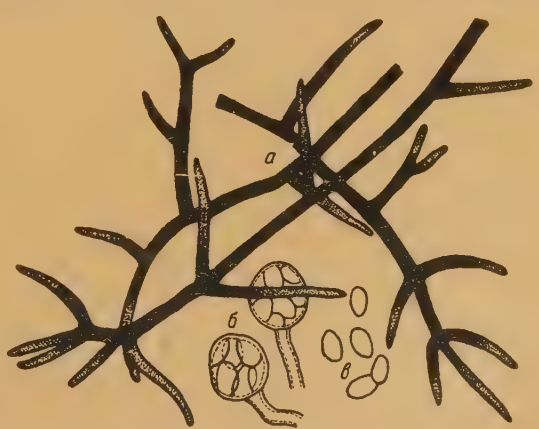


Рис. 1. Микроскопическое строение гриба: *а*—гифы, окружающие сумки; *б*—сумки, *в*—споры

Микроскопическое строение Gymnoascus setosus Eidam представлено на рис. 1. Бесплодный мицелий гриба тонкий, поперечник гиф 1,8—2,1 μ. Гифы, окружающие сумки, темно окрашены, роговидно разветвлены, толщина основных ветвей 2,7—3,6 μ. Они образуют рыхлое, шарообразное сплетение диаметром 150—200 μ, от которого распространяются на расстоянии 150—250 μ отдельные ветвящиеся гифы. Сумки имеют округлую форму и содержат

по 8 одноклеточных эллиптических желтовато-окрашенных аскоспор размером 3,0—3,6 × 4,8—5,0 μ. При внимательном рассмотрении можно заметить вакуолевидное круглое включение внутри аскоспоры. Прорастание спор происходит в виде толстого искривленного проростка.

Изучение физиологических свойств Gymnoascus setosus Eidam производилось на средах, состоящих из различных источников углерода и азота. При этом обращалось внимание на рост колонии и выделение пигмента в среду.

Методика работы

При всех опытах гриб выращивался в пробирках на клетчатке или стеклянной вате, пропитанной питательным раствором, который добавлялся по 5 мл в пробирку. Для посева использовались двухмесячные культуры, выращенные на клетчатке. Опытные пробирки выдерживались в термостате при температуре 25—27°. Данные о росте и пигментообразовании гриба записывались еженедельно; окончательными считались двухмесячные результаты. Рост и пигментообразование гриба определялись по трехбальной системе или трехцветной таблице.

1 серия опытов имела целью установить возможность использования Gymnoascus setosus Eidam некоторых соединений азота и углерода. Были приготовлены синтетические среды, состоящие каждая из двух компонентов. В качестве источников углерода служили 9 следующих веществ, взятых в 1%-ной концентрации: глюкоза, сахароза, мальтоза, лактоза, крахмал, клетчатка, лимонная кислота, парафин, таннин. Источниками азота в концентрации 0,1% являлись желатина, пептон, аспарагин, сернокислый аммоний, калиевая селитра. Таким образом, было получено 45 сред; данные о развитии и пигментообразовании гриба на них через два месяца после начала опыта приведены в табл. 1. Из таблицы следует, что гриб хорошо развивается на средах с мальтозой, сахарозой, глюкозой, лактозой, крахмалом и очень хорошее развитие происходит на клетчатке. В последнем случае гриб растет очень медленно: первоначально образуется крупная, мощная колония, а затем наступает пигментообразование. На средах с крахмалом и сахарами колонии более слабые, с незначительным спорообразованием, но с хорошим образованием пигмента. Выделение пигмента особенно отличается на сахарозе и мальтозе: среда окрашивается в красный, темновишневый цвет, а гриб растет в виде белого пленчатого налета. В общем Gymnoascus setosus Eidam может использовать все 9 испытанных источников углерода, но не все в одинаковой степени. В присутствии парафина, лимонной кислоты и таннина только в нескольких пробирках наблюдался едва заметный рост, в то время как на сахарах, крахмале и клетчатке происходило интенсивное развитие гриба во всех пробирках.

Изменения в азотистом питании вызывали более резкие отклонения в развитии гриба. Опыты показали, что для Gymnoascus setosus Eidam более благоприятны сложные органические источники азота: пептон и желатина. На средах с аспарагином, селитрой и сернокислым аммонием развитие заметно ослаблено. Такая же зависимость сохраняется и в отношении пигментообразования, но здесь следует отметить, что сернокислый аммоний особенно неблагоприятен для выделения пигмента. В присутствии пептона и желатины рост и пигментообразование Gymnoascus setosus Eidam протекали при всех источниках углерода интенсивно. Интересно отметить, что единственным случаем, когда появился рост на таннине, была среда с пептоном; при этом образовались очень мощные спороносящие колонии, но лишенные каких-либо признаков пигментообразования. Едва заметный рост появился еще в двух случаях: на пептоне с лимонной кислотой и на желатине с парафином.

Из всех использованных сред Gymnoascus setosus Eidam образовывал самые мощные и хорошо развитые колонии, выделяющие пигмент на

Таблица 1

Пигментообразование и развитие Gymnoascus setosus Eidam на разных средах

Источник азота в концентрации 0,1%	Источник углерода в концентрации 1%								
	Мальтоза	Сахароза	Крахмал	Глюкоза	Лактоза	Клетчатка	Лимонная к-та	Таннин	Парафин
Пептон	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—	—
Желатина	+++	+++	+++	++	++	++	—	—	—
Аспарагин	++	+	+	+	+	—	—	—	—
Селитра калиевая	++	+	++	++	+	+	—	—	—
Сернокислый аммоний	+	+	+	—	—	—	—	—	—
Пептон	00	00	00	00	00	000	0	000	—
Желатина	00	00	00	00	00	00	—	—	0
Аспарагин	00	0	00	0	0	00	—	—	—
Селитра калиевая	00	0	00	0	0	00	—	—	—
Сернокислый аммоний	00	0	0	00	0	00	—	—	—

Условные обозначения. +++ сильное, вишнево-красное пигментообразование; ++ розовое пигментообразование; + едва намечающееся пигментообразование; — отсутствие роста или пигментообразования; 000 мощное разрастание колонии со спороношением; 00 колония в виде налета с небольшим спорообразованием; 0 едва намечающийся рост.

клетчатке в присутствии пептона и желатины, причем пигмент на желатине имел желтоватый оттенок. Пигментообразование гриба протекало лучше всего на средах, содержащих пептон и желатину в сочетании с сахарозой, мальтозой или крахмалом. Заметное торможение пигментообразования вызывалось присутствием сернокислого аммония.

II серия опытов аналогична первой и была поставлена на средах, приготовленных путем попарной комбинации пяти источников азота и шести источников углерода, взятых в различных концентрациях. Для пептона, желатины, калиевой селитры, аспарагина и сернокислого аммония были приняты концентрации 0,1, 0,5 и 1%. Мальтоза, сахароза, глюкоза, лактоза, крахмал и клетчатка содержались в средах в количестве 1 или 5%. Таким образом, всего получилось 180 сред.

В отношении качественного состава сред опыты дали результаты, полностью совпадающие с данными первой серии опытов.

Изменение количественных соотношений источников углерода от 1 до 5% не сопровождалось заметными изменениями в развитии гриба. Гораздо большую роль для Gymnoascus setosus Eidam играли колебания в количественном содержании азотистых веществ. Увеличение содержания пептона и желатины от 0,1 до 1% заметно способствовало пигментообразованию и развитию колонии гриба. На средах с сернокислым аммонием наблюдалась совершенно обратная картина: увеличение процента содержания сернокислого аммония тормозило развитие и особенно образование пигмента. Так же плохо усваивался грибом аспарагин. Довольно однообразную картину представляло собой развитие гриба на средах с калиевой селитрой, к изменению в содержании которой гриб относился, повидимому, почти безразлично.

Подводя итоги проделанным опытам, следует указать, что Gymnoascus setosus Eidam лучше развивался и выделял пигмент на тех органических азотистых веществах, которые одновременно могли служить ему источником углерода и азота. Гриб использовал все сахара и крахмал, однако самые мощные колонии с обильным пигментообразованием наблюдались всегда на тех средах, которые содержали в качестве источника углерода клетчатку и азотистые вещества в виде пептона, желатины или калиевой селитры.

III серия опытов состояла в определении максимального осмотического давления, при котором способен расти Gymnoascus setosus Eidam. Гриб выращивался на растворах сахаров повышенной концентрации в пределах от 4 до $^1/_8$ грамм-моля на литр. Нормальные условия азотистого питания обеспечивались добавлением 1% пептона. Данные опытов по выращиванию гриба на растворах глюкозы, сахарозы и мальтозы приводятся в табл. 2.

Из таблицы следует, что гриб может использовать раствор глюкозы вплоть до 2-молярной концентрации включительно; на сахарозе и мальтозе развитие происходит только в случае 1-молярных растворов. При концентрации 1,5 моля рост едва намечается через один месяц, но так и останавливается на зачаточной стадии в виде небольшой и тонкой пленочки в месте посева. Во всех случаях первоначально разрастается колония, а пигментообразование несколько запаздывает в сравнении с нормальными условиями развития.

Опыт показал, что Gymnoascus setosus Eidam выдерживает осмотическое давление приблизительно в пределах 50—55 атм. и, следовательно, в клетках гриба развивается очень большая сосущая сила.

Развитие в условиях повышенного осмотического давления отражается на микроскопической структуре гриба. Мицелий гриба, выращенного на растворе пептона с добавлением 0,5 сахара, совершенно ровный, не имеющий утолщений. У гриба, взятого с $^1/_2$ молярного раствора, в гифах появляются вздутия, достигающие размера 3—7 . При концентрации глюкозы в 2 моля количество вздутий резко возрастает, некоторые гифы

Таблица 2

Развитие Gymnoascus setosus Eidam на растворах сахаров повышенной концентрации

Название вещества	Концентрация растворов в грамм-молях на литр								
	4	3	2	1,5	1	3/4	1/2	1/4	1/8
Глюкоза	—	—	+	+	+	+	+	+	+
Сахароза	—	—	—	±	+	+	+	+	+
Мальтоза	—	—	—	±	+	+	+	+	+

Условные обозначения. + рост гриба; — отсутствие роста; ± слабый рост.

приобретают почти четкообразную форму. В центре некоторых вздутий часто видна крупная вакуоля.

IV серия опытов имела целью установить влияние изменений в концентрации азотистых веществ на развитие Gymnoascus setosus Eidam. При этом предполагалось определить то наименьшее количество вещества, к которому гриб обнаруживает чувствительность.

Так же как и в предыдущих опытах, гриб выращивался на клетчатке или 5%-ном растворе сахарозы. Азотистое питание добавлялось в виде пептона и желатины в концентрациях от 0,5 до 0,00390625%, которые получались путем последовательного разведения исходных растворов. Опыт имел два контроля: во-первых, 5%-ный раствор сахарозы и клетчатка, смоченная водой, т. е. источники углеродистого питания без добавления азотистых веществ; во-вторых, 0,5%-ные растворы пептона и желатины при отсутствии соединений углерода. Результаты опытов представлены на табл. 3.

Из таблицы видно, что повышение концентрации азотистых веществ во всех случаях улучшало и рост и пигментообразование гриба. Желатина в большей степени способствовала пигментообразованию, а пептон лучше стимулировал рост гриба. Одновременно с этим на клетчатке происходило хорошее развитие колонии, а на сахарозе возрастало выделение пигмента. Оба контроля ни в одном случае не обнаружили ни пигментообразования, ни роста гриба.

Заметный рост появлялся во всех пробирках при содержании пептона или желатины 0,00390625%, а на среде с сахарозой отмечалось даже пигментообразование. Присутствие 0,0078125% желатины способствовало значительному выделению пигмента, которое усиливалось и достигало максимума при концентрации 0,125%.

Для развития Gymnoascus setosus Eidam на клетчатке достаточно самых незначительных количеств азотистого вещества: при концентрации пептона 0,03125% на клетчатке образовались мощные колонии со спороношением.

Этой серией опытов установлено, что развитие и пигментообразование Gymnoascus setosus Eidam возможны только при одновременном содержании в среде источников углерода и азота. Однако гриб довольствуется очень незначительным количеством азотистых веществ, соответствующим сотым и даже тысячным долям процента.

При выращивании гриба на различных средах была замечена зависимость между составом среды и тоном окраски пигмента, выделяемого грибом. При более подробном изучении выяснилось, что выделению пигмента благоприятствует смещение реакции среды в щелочную сторону, в то время как изменение pH в сторону подкисления приводит к значительному снижению пигментообразования.

Таблица 3

Пигментообразование и развитие колонии Gymnoascus setosus Eidam при различной концентрации азотистых веществ

Источник углерода	Источник азота	Концентрация азотистых веществ									
		0,5%	0,25%	0,125%	0,0625%	0,03125%	0,015625%	0,0078125%	0,00390625%	Без азотистых веществ. Контроль I	0,5% без углеродистых веществ. Контроль II
Сахароза 5%-ная	Пептон	+++	++	++	++	++	+	+	+		—
	Желатина	+++	+++	+++	++	++	++	++	+	—	—
Клетчатка 5%-ная	Пептон	++	++	++	++	++	—	—	—		
	Желатина	++	++	++	++	++	+	+	—	—	
Сахароза 5%-ная	Пептон	00	00	00	00	00	0	0	0		
	Желатина	00	00	00	00	0	0	0	0	—	
Клетчатка 5%-ная	Пептон	000	000	000	000	000	00	00	00		—
	Желатина	00	00	00	00	00	00	00	0	—	—

Условные обозначения. +++ обильное вишнево-красное или оранжевое пигментообразование; ++ хорошее красное пигментообразование; + небольшое розовое пигментообразование; 000 хорошее развитие колонии с обильным спороношением; 00 рост в виде тонкой колонии без обильного спороношения; 0 слабый рост с незначительным спороношением; — пигментообразования и роста нет.

Одним из существенных вопросов развития Gymnoascus setosus Eidam на книгах является его способность к разрушению волокна бумаги. В связи с этим большой интерес представляло изучение развития гриба на клетчатке. Опыты заключались в том, что гриб выращивался на полосках фильтровальной бумаги, которые предварительно высушивались до постоянного веса, взвешивались с точностью до 0,0001 г и смачивались 5 мл 0,125%-ного раствора пептона. После того как значительная часть фильтровальной бумаги подверглась разрушению, производилось вторичное взвешивание фильтровальной бумаги и вычислялся процент разрушенной клетчатки за известный промежуток времени. Разрушение грибом фильтровальной бумаги в опыте продолжительностью 111 дней представлено на рис. 2, а цифровые данные опыта приводятся в табл. 4.

Рис. 2. Разрушение грибом фильтровальной бумаги; слева — до опыта; справа — разрушение бумаги через 3 месяца

Таблица показывает, что из 0,2565 г. исходной клетчатки за 111 дней грибом разрушено 0,1554 г, что составляет около 60%. В местах развития колонии бумага просветлялась и оставалась только очень тонкая, прозрачная пленочка. Очевидно, что Gymnoascus setosus Eidam интенсивно использует клетчатку и разрушает ее наполовину приблизительно за три месяца.

Таблица 4

Разрушение клетчатки Gymnoascus setosus Eidam

№ пробы	Вес исходной клетчатки в г	Остаток клетчатки после опыта в г	Вес разрушенной клетчатки в г	% разрушенной клетчатки
I	0,0380	0,0149	0,0231	60,79
II	0,0465	0,0174	0,0291	62,58
III	0,0455	0,0183	0,0272	59,78
IV	0,0440	0,0160	0,0280	63,63
V	0,0495	0,0224	0,0271	54,74
VI	0,0330	0,0121	0,0209	63,33
Всего	0,2565	0,1011	0,1554	60,58

Результаты проведенных опытов позволяют сделать следующие выводы о физиологических свойствах Gymnoascus setosus Eidam.

Выводы

1. Из 9 исследованных источников углерода лучше всего грибом использовались сахара, крахмал и клетчатка; из сахаров наиболее слабое развитие было на лактозе. Лимонная кислота в присутствии других источников углерода грибом совершенно не использовалась.

2. Хорошо развитые колонии, обильно выделяющие пигмент, образовались на клетчатке. При этом за 3 месяца клетчатка разрушалась наполовину.

3. Все вещества, использованные как источники азота, потреблялись грибом по убывающей линии в следующем порядке: пептон, желатина, калиевая селитра, аспарагин, сернокислый аммоний.

4. Гриб особенно хорошо использует органические соединения азота, которые одновременно могут служить источниками азота и углерода, он также способен развиваться на аммонийном и нитратном азоте.

5. Гриб заметно реагирует на количественное содержание компонентов среды; хорошо выраженная чувствительность наблюдалась при изменениях в концентрации азотистых веществ. Развитие и пигментообразование гриба на клетчатке и сахарозе становятся возможными, когда к среде добавлены пептон или желатина в сотых и даже тысячных долях процента.

6. Оптимальной средой для развития гриба следует признать клетчатку с пептоном или желатиной, что полностью соответствует условиям его роста на книгах.

7. Обильное пигментообразование наблюдалось на сахарозе и мальтозе с пептоном или желатиной.

8. Менее всего благоприятна для развития и пигментообразования гриба среда с лактозой и сернокислым аммонием.

9. Gymnoascus setosus Eidam является чрезвычайно осмофильным грибом: он способен расти при концентрации сахарозы до 1,5 моля, что соответствует давлению 50—55 атм. При этом значительно возрастает число вздутий в гифах мицелия.

Государственная публичная библиотека
им. М. Е. Салтыкова-Щедрина
Ленинград

Получено 25.I.1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Massee G. a. Salmon E. Researches on Coprophilous Fungi. II. Ann. Bot., XVI. 63, 1902.

О ПРИМЕНЕНИИ УЛЬТРАЗВУКОВЫХ КОЛЕБАНИЙ В МИКРОБИОЛОГИИ

Е. Л. Рубан

Ультразвук или высокочастотные упругие колебания с частотой колебаний частиц от 20 до 1 000 000 кгц являются весьма эффективным и специфичным фактором воздействия. Благодаря особенным свойствам эти колебания нашли себе применение в ряде областей науки и техники: для диспергирования, эмульгирования, ускорения течения химических реакций и диффузионных процессов.

В микробиологических исследованиях ультразвуковые колебания использовались для разрушения бактериальных клеток с целью дезинфекции и стерилизации, для инактивации вирусов, изменения вирулентности микробов, получения бактериальных энзимов и токсинов (Эльпинер [1]).

Наши исследования по воздействию ультразвуковых колебаний на микроорганизмы проводились в двух направлениях: 1) выяснялись возможности применения ультразвуковых колебаний с целью стерилизации; 2) уточнялись способы получения свободных ферментов из клеток микроорганизмов.

В качестве источника ультразвуковых колебаний применялись кварцевые вибраторы, дающие различную частоту колебаний; питание осуществлялось генератором мощностью 1 кв с напряжением 2800 в и током анода от 100 до 140 мА. Мощность 8—12 ватт на 1 см² поверхности кварца.

Стерилизация при помощи ультразвука

Объектом для исследования стерилизующей способности ультразвука служила суспензия семидневной культуры антракоида (Bacillus antracoides H. et W.), богатая спорами. Бактериальная суспензия готовилась путем смывания культуры с поверхности мясопептонного агара физиологическим раствором и последующим тщательным разбиванием конгломератов встряхиванием со стеклянными бусами. В опытный сосуд вносилось по 2 мл культуры, содержащей от 10^9 до 10^{10} бактериальных тел.

Первоначальные опыты по разрушению культуры антракоида проводились с водными суспензиями этого микроорганизма; при этом оказалось, что для разрушения вегетативных клеток достаточно 10—20 минут воздействия ультразвуком, но деформация спор и частичная потеря ими способности прорастать достигается только после пятичасового озвучивания суспензии при 30°.

В связи с этим нами были поставлены опыты по изучению скорости разрушения ультразвуком спор Bacillus antracoides при добавлении в водную суспензию таких веществ, как мыло и аммиак.

Эти вещества в значительных концентрациях сами по себе обладают угнетающим действием, однако в наших опытах их концентрации были настолько низкими, что стерилизующее действие они оказывали только при дополнительном наложении ультразвуковых волн.

Концентрация раствора мыла была 0,1%, раствора аммиака — 0,05%.

Суспензия (20 и 50 мл) озвучивалась в колбах с широким плоским дном (типа колбы Виноградского, но с более длинным горлышком) ем-

костью 100 мл. Опытными жидкостями были 0,1%-ный раствор хозяйственного мыла с pH 7,0—7,2 и пептонная вода pH 7,0—7,2.

После озвучивания из мыльного раствора делались посевы на чашки Петри с мясопептонным агаром. Суспензия в пептонной воде в той же колбе ставилась в термостат, чем контролировалась возможность воздушного заражения при посевах. Посевы выдерживались в термостатах четверо суток при температуре 37°.

Проведенные опыты позволили выяснить значение следующих различных факторов: продолжительности обработки, температуры и напряжения анодного тока (табл. 1, 2, 3).

Таблица 1.

Влияние продолжительности обработки суспензий ультразвуком
(Температура 70—80°)

Время в минутах / Частота в кгц	Количество клеток или спор B. antracoides в 1 мл мыльного раствора							
	0	5	10	20	25	30	50	60
1000	1800	159	31	16	8	3	0	0
1200	1200	900	46	13	7	2	0	0
1600	1100	450	39	17	5	3	0	0

Таблица 2

Влияние температуры при обработке суспензии Bac. antracoides ультразвуком
(Частота 1600 кгц)

Время в минутах	Количество бактерий в 1 мл мыльного раствора при температуре						Исходное количество бактерий
	30	45	50	70	80—90	100	
10	31	13	4	2	2	0	2800
20	46	10	7	3	0	0	1920
30	8	7	13	5	0	0	1200
40	3	9	10	1	0	0	1560
50	2	3	3	0	0	0	1800
60	2	0	2	0	0	0	1640

Полное уничтожение семидневной культуры Bac. antracoides при температуре 70° достигается через 50 минут при напряжении 70—80 мА и через 20 минут при напряжении 140—180, но при температуре 85—90°.

В дальнейшем была поставлена серия опытов по выяснению наилучшего состава жидкости для обработки суспензии. Условия опытов, кроме состава жидкости, везде были одинаковы: объем суспензии был 200 мл, частота всегда была 1600 кгц, ток 100 мА, мощность 8—10 ватт на 1 см², температура не превышала 70°, время озвучивания составляло 30 минут с перерывом и повторным озвучиванием в течение еще 30 минут.

Испытывались следующие суспендирующие жидкости: стерильный мыльный раствор (0,1% мыла в водопроводной воде), стерильный аммиачный раствор (0,05% аммиака в водопроводной воде) и водопроводная вода. После озвучивания делались посевы на чашки Петри с мясопептонным агаром и в колбы с бульоном после первой части озвучивания и после второй. Наблюдения за посевами проводились в течение 5—6 суток. Отсутствие развития бактерий в колбах с бульоном контролировалось повторными посевами бульона на чашки Петри с мясопептонным агаром.

Результаты опытов сведены в табл. 4.

Таблица 3

Влияние напряжения анодного тока при обработке бактериальной суспензии ультразвуком

(Частота 1200 кг : количество клеток и спор B. antracoides после обработки равно 0)

Напряжение в мА	Время в минутах	Температура в °
70—80	50	70
90—100	30	85—90
100—110	30	85—90
140—180	20	85—90

Таблица 4

Разрушение спор суспензии Bac. antracoides ультразвуком в мыльном и аммиачном растворах

Раствор	Стерильность	
	первые 30 минут	вторые 30 минут
Мыльный 0,1% . . .	—	+
Аммиачный 0,05% .	+	+
Вода	—	—

Контрольные пробы суспензии, обработанные такими же растворами и течение 30 + 30 минут и при той же температуре, но без ультразвука, во всех случаях были нестерильны.

Следующая серия опытов была поставлена для выяснения возможности сокращения сроков обработки суспензии ультразвуком; для этого суспензия обрабатывалась в мыльном растворе с добавкой аммиака и пропусканием воздуха во время обработки.

Результаты приведены в табл. 5.

Таблица 5

Влияние аммиака и кислорода в жидкости на скорость стерилизации

Раствор	Время в минутах	Стерильность раствора	Примечание
Мыльный	50	—	
Аммиачный	30	+	
Мыльный + аммиак . .	20	+	
Мыльный + воздух . .	20	—	Единичные клетки
Мыльный + аммиак + + воздух	15	+	

Примечание. + полная стерильность,— отсутствие стерильности.

Из приведенных в табл. 5 данных следует, что разрушение споровой культуры Bac. antracoides может быть достигнуто путем обработки ее ультразвуком в течение 15 минут при частоте 1000—1600 кгц, причем в качестве суспендирующей жидкости наилучшим оказался 0,1%-ный раствор мыла с добавлением 0,05% аммиака и с пропусканием воздуха во время озвучивания.

Проведенные опыты показывают принципиальную возможность разрушения устойчивой споровой культуры в нейтральных или слабощелочных жидкостях наложением упругих механических колебаний высокой частоты при продолжительности обработки в пределах 15—50 минут.

Для сокращения времени обработки нами были поставлены комбинированные опыты с применением формалина. Обычно дезинфекция осуществляется растворами формальдегида, крепость которых достигает 2—4%. Опыты, проведенные с применением ультразвуковых колебаний, позволили значительно снизить концентрацию формальдегида.

Они состояли в том, что в суспензию антракоида в количестве 200 мл добавлялось 0,1%-ного раствора жидкого мыла и различные количества

формальдегида. Озвучивание проводилось сферическим кварцем при частоте 1300 кгц, напряжении анодного тока 140 мА и мощности 8—10 ватт на 1 см². Повторность опытов была пятикратная. Стерильность контролировалась на посевах в мясопептонный бульон и на мясопептонный агар, которые инкубировались при 37° 4 суток.

Наименьшее количество формальдегида, необходимое для полного обеззараживания, составило 0,05% при экспозиции в ультразвуковом поле в течение 6 минут.

Применение ультразвуковых колебаний для стерилизации мы считаем, на основании наших опытов, весьма перспективным, так как при этом сокращается срок обработки субстрата и в 40 раз уменьшается количество применяемых при обычной дезинфекции количеств формальдегида.

Получение свободных ферментов

1. Получение протеолитического фермента

Густая суспензия односуточной культуры сенной палочки (Bac. subtilis E.), полученная путем смывания бактериального налета с поверхности мясопептонного агара физиологическим раствором, вносилась в воду в количестве 10 мл и озвучивалась в течение 1 часа при 30°, частоте 1300 кгц и анодном напряжении 140 мА. Затем из суспензии приготовлялись микроскопические препараты и делались посевы на мясопептонный бульон и агар для проверки полноты уничтожения живых клеток. Суспензия после озвучивания делилась на три части. Первая из них кипятилась, вторая фильтровалась через мембранный фильтр № 4, а третья оставлялась без какой-либо обработки.

Ферментативная активность суспензии испытывалась путем внесения различных ее количеств в 3%-ный раствор желатины, нагретый до 30°. После внесения в желатину озвученной суспензии жидкость перемешивалась и охлаждалась до застывания желатины. Антисептиком служил толуол.

Контролем служили неозвученная, отфильтрованная через мембранный фильтр суспензия и озвученная прокипяченная суспензия. Желатина с суспензией оставлялась на 1 сутки при комнатной температуре. Прокипяченная суспензия не разжижает желатины. Фильтрат неозвученной бактериальной суспензии также не дает полного разжижения. Наибольшее разжижение наблюдается при внесении в желатину неотфильтрованной озвученной суспензии. По средним данным из многих опытов не больше 1 мл этой суспензии достаточно для полного разжижения 10 мл 5%-ной желатины. Меньшую активность показала суспензия, озвученная и профильтрованная через мембранный фильтр (1,5 мл суспензии на 10 мл желатины), что, возможно, связано с частичной адсорбцией фермента фильтром.

Неозвученная отфильтрованная суспензия разжижала желатину в количестве не меньше чем 3—5 мл. В разжиженной желатине и контроле определялось количество аминного азота методом формольного титрования, причем в разжиженной желатине всегда наблюдалось резкое увеличение аминогрупп.

Контрольные посевы, проведенные после опытов, из всех пробирок с желатиной показали отсутствие роста бактерий. На основании этой серии опытов мы приходим к заключению, что протеолитические ферменты могут быть высвобождены из клеток путем их разрушения ультразвуковыми колебаниями.

2. Получение амилазы из пленки аспергилла

Аспергилл (Aspergilius niger) выращивался на стерильных пшеничных отрубях в течение 4—5 суток при 24°, затем высушивался при 30°,

растирался в ступке в порошок и в таком виде экстрагировался водой. Порошок аспергилла в количестве 2 г заливался 100 мл воды и подвергался озвучиванию в стакане из шоттовского стекла при частоте 1300 кгц, 110 мА и температуре 40° в течение 5, 10, 15 и 30 минут; затем смесь фильтровалась и фильтрат добавлялся в различных количествах к 10 мл 2%-ного раствора крахмала. Контроль экстрагировался при той же температуре в течение тех же промежутков времени, но без воздействия ультразвуком и, кроме того, в течение суток.

Осахаривание крахмала определялось иодной реакцией и по появлению редуцирующих веществ через 24 часа при комнатной температуре.

Результаты представлены в табл. 6.

Эти данные указывают на значительное увеличение выхода амилазы при обработке ультразвуком пленок аспергилла.

Таблица 6

Влияние ультразвука на скорость экстракции амилазы из пленки аспергилла

Экспозиция	Экстракт	Количество экстракта, необходимое для осахаривания 10 мл 2%-ного крахмала в мл
5 минут . . .	Контроль	—
	Опыт	2
10 „ . . .	Контроль	10
	Опыт	1
15 „ . . .	Контроль	5
	Опыт	0,6
30 „ . . .	Контроль	3
	Опыт	0,5
24 часа . . .	Контроль	0,8

Выводы

1. Ультразвуковые колебания могут быть использованы для дезинфекции, причем процесс наиболее быстро и полно протекает в слабощелочных растворах или в присутствии малых количеств формалина и требует для полного обеспложивания от 6 до 30 минут.

2. Разрушение клеток Bac. subtilis в водной суспензии наложением ультразвуковых колебаний сопровождается освобождением и выходом в окружающую среду активных протеолитических ферментов.

3. Наложением ультразвуковых колебаний можно ускорить экстракцию амилазы из пленки аспергилла и повысить ее количество в экстракте.

Всесоюзное химическое общество
им. Д. И. Менделеева
Московское отделение

Получено 28.XII.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Эльпинер И. Е., Ультразвуковые волны в микробиологии (Обзор). Микробиология, XXI, 228, 1952.

ПЛЕСНЕВЫЕ ГРИБЫ ИЗ РОДА ASPERGILLUS КАК ПРОДУЦЕНТЫ АМИЛАЗЫ

I. ОБ АМИЛОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТНЫХ СИСТЕМАХ У ДВУХ ВИДОВ ГРИБОВ ASPERGILLUS

Р. В. Фениксова

Классическими представителями плесневых грибов с высокой активностью амилазы издавна считались грибы Aspergillus oryzae, почему они и нашли широкое практическое применение в качестве источника данного фермента. Для другого вида этого рода, а именно для гриба Asp. niger более характерной способностью является превращение сахара в органические кислоты, в связи с чем данный вид использовался главным образом для получения лимонной кислоты.

Однако многообразие ферментов, образующихся в культурах плесневых грибов, позволяет применять их для самых различных целей. В частности, культура Asp. niger была использована Вяткиным [1] для гидролиза инулина при переработке цикория в спирт. Позднее Вяткин и Станьков применили культуру Asp. niger для осахаривания крахмалосодержащего сырья, используя для этой цели штамм S, выделенный во Всесоюзном научно-исследовательском институте спиртовой промышленности (ВНИИСП) Станьковым [2].

При изучении культур грибов Aspergillus, выращенных на естественных и искусственных средах, мы всегда наблюдали, что грибы вида Asp. oryzae неизменно показывали наличие активной амилазы. Последняя определялась по способности к превращению крахмала в неокрашиваемые иодом декстрины (амилолитическая способность — А. С.), по способности к превращению крахмала в мальтозу (осахаривающая способность — О. С.) и по активности декстриназы — фермента, гидролизующего конечные декстрины (декстринолитическая способность — Д. С.).

Культуры вида Asp. niger на тех же средах всегда проявляли значительно меньшую активность амилазы и довольно высокую способность к гидролизу декстринов. Для характеристики амилолитических систем этих двух видов грибов приводим данные по активности амилазы в культурах, выращенных на жидкой синтетической среде Чапека с крахмалом в качестве источника углерода (табл. 1).

Резкое различие в активности амилолитических ферментов вызывало вполне законный вопрос о том, почему обе сравниваемые культуры грибов при применении их в качестве источника амилазы для осахаривания крахмалистого сырья дают всегда одинаковые результаты по выходу конечных продуктов брожения.

Подобное несоответствие между активностью амилазы и результатами брожения в культурах плесневых грибов Asp. oryzae и Asp. niger мы наблюдали неизменно в течение многих лет. Этот же факт отмечают в своей работе Климовский и Родзевич [4] и высказывают предположение о том, что культура Asp. niger содержит активную фосфорилазу, что и обеспечивает, по мнению авторов, полное превращение крахмала в сбраживаемые сахара. Таким образом, действие фосфорилазы должно как бы дополнять недостаточную активность амилазы в культурах Asp. niger.

По нашему мнению, высказанное предположение о фосфоролизе едва ли можно считать правильным, так как для проявления гидролитиче-

ского действия фосфорилазы необходимо наличие свободного неорганического фосфата в эквимолекулярном количестве по отношению к образующейся глюкозе. Количество же фосфора, связанного в молекуле крахмала, настолько ничтожно мало по сравнению с тем, которое требуется для проявления гидролитической активности фосфорилазы, что его можно не принимать во внимание, тем более, что, согласно этим же авторам, фосфор освобождается из крахмала лишь в последней стадии гидролиза [3].

Таким образом, следует признать, что существующее различие в активности амилолитических ферментных систем у двух видов Aspergillus не может быть объяснено наличием фосфорилазы. В литературе имеется указание [8, 9], что при выборе штамма грибов для целей осахаривания следует отбирать такие, которые обладают средней по величине активностью амилазы и высокой активностью мальтазы и что мальтаза или подобные ей α-глюкозидазы принимают участие не только в расщеплении мальтозы до глюкозы, но и обуславливают гидролиз более высокополимеризованных продуктов и, возможно, даже крахмала. Такой принцип выбора культуры не может иметь того значения, которое ему приписывается, так как в этом случае лучшие результаты осахаривания могли бы быть получены при применении смеси культур — одной, обладающей высокой активностью амилазы, и второй — высокой активностью мальтазы, чего мы не наблюдаем, применяя смесь культур Asp. oryzae и Asp. niger, у которого активность мальтазы значительно выше, чем у первого.

Таблица 1

Активность амилазы у двух видов Aspergillus

Название грибов	Активность амилазы в ед. А. С.	
	на 1 г сухой пленки	на 100 мл культуральной жидкости
Asp. oryzae	9,1	1,16
Asp. niger	0,04	Амилаза не обнаружена

При попытках получить более активные штаммы грибов, чем те, которые имелись в нашем распоряжении, в нашей лаборатори было выделено более 100 штаммов грибов Aspergillus из различных почв СССР, полученных от Почвенного института АН СССР. Выделение производилось также из зерна и заплесневевшего солода. Отбирались виды грибов, схожие по своим морфологическим признакам с нашими рабочими штаммами, т. е. выделялись две группы грибов: одна группа с желтозелеными конидиями и с формой конидиеносца, аналогичной по своему строению с конидиеносцами Asp. oryzae, и вторая группа — с черной окраской конидий и с формой плодоносящих органов, соответствующей виду Asp. niger.

При сравнительной характеристике всех выделенных штаммов грибов по активности амилазы и по результатам брожения было отобрано несколько форм, которые нисколько не уступали нашим рабочим штаммам. В табл. 2 приведены данные по активности амилазы, декстриназы, мальтазы и результатам брожения в культурах рабочих штаммов и в тех диких формах, которые были отобраны из большого числа культур, выделенных из почвы. Все культуры грибов выращивались на пшеничных отрубях, увлажненных до 55—60%. Определение активности трех вышеуказанных ферментов, которые могут принимать участие в гидролизе крахмала и давать в качестве конечных продуктов гидролиза сахарамальтозу и глюкозу, включает всю систему известных до сих пор амилолитических агентов.

При определении ферментов в культурах грибов экстракция амилазы производилась водой с прибавлением ацетатного буфера pH 5,0—5,10, с тем, чтобы исключить всякое предположение о возможном действии фосфорилазы, которое может иметь место при прибавлении фосфатного

буфера, тем более, что его применение считается неправильным при работе с амилазами [6].

Такое резкое отличие в активности амилазы, которое наблюдается у двух изучаемых видов аспергиллов, наряду с совершенно одинаковыми результатами брожения, позволяет сделать определенные выводы.

Для грибов Asp. oryzae характерна очень высокая активность амилазы и относительно низкая активность мальтазы. Культуры другого вида — Asp. niger — содержат ничтожно малое количество амилазы и весьма значительное количество мальтазы, что, повидимому, и обеспечивает полный гидролиз крахмала при брожении. Тот факт, что дикие формы грибов обоих видов по активности фермента нисколько не уступают имеющимся так называемым культурным формам, полученным из музеев чистых культур, прежде всего говорит о том, что все музейные культуры плесневых грибов Aspergillus представляют собой дикие формы, выделенные в разное время различными исследователями. Здесь не может быть проведено аналогии с дрожжевыми грибами, у которых имеет место резкое различие в активности брожения между культурными и дикими расами.

Неоднократно производившееся сравнение активности у различных штаммов грибов Aspergillus и в особенности приведенное выше сопоставление музейных и диких форм грибов говорят о том, что для них существует какой-то максимум активности амилолитических ферментов. Последнее обстоятельство дает полное основание предполагать, что поиски более активных культур в природе едва ли приведут к выделению такой формы гриба, которая бы значительно превосходила по активности амилазы все имеющиеся штаммы. Повидимому, в процессе эволюции этих организмов выработалась вполне определенная способность к образованию амилолитических ферментов, которая определяется экологическими условиями их существования. Выделение грибов из объектов, богатых крахмалом (зерно, солод), не дает никакой заметной разницы в их способности к образованию амилазы. Таким образом, единственно правильный путь получения более активных форм грибов дает мичуринская биология, позволяющая направленно усиливать практически полезные функции организма.

Другим, с нашей точки зрения, принципиальным вопросом, вытекающим из приведенного сравнения амилолитических ферментов двух видов аспергиллов, является возможность полного гидролиза крахмала при весьма низкой активности амилазы, которую мы наблюдали у всех штаммов Asp. niger. Поскольку осахаривание крахмала культурами грибов происходило при одновременно протекающем брожении, т. е. при постоянном удалении из среды образующегося сахара, можно было предполагать, что того весьма незначительного количества амилазы, которое вносилось с навеской культуры Asp. niger (5% сухой культуры на пшеничных отрубях по весу муки), было достаточно для полного гидролиза крахмала.

С другой стороны, если принять такое предположение, то тогда можно было бы ожидать, что количество культуры гриба Asp. oryzae, обладающего в несколько десятков раз более высокой активностью амилазы, может быть уменьшено в соответствующее число раз. Однако неоднократные опыты осахаривания муки с уменьшенным количеством культуры Asp. oryzae и последующего сбраживания показывали, что даже уменьшение только в два раза приводит к неполному осахариванию крахмала, а следовательно, и к понижению выходов спирта. Последнее обстоятельство еще раз подтверждает наличие у гриба Asp. niger особой, характерной для данного вида, системы амилолитических ферментов, проявляющейся, как уже упоминалось выше, в весьма незначительной активности амилазы и в высокой способности к расщеплению мальтозы, сочетание которых обеспечивает полный гидролиз крахмала при броже-

Характеристика амилолитических систем двух видов грибов Aspergillus

Название грибов	Активность амилолитических ферментов в ед. на 1 г сухой культуры				Выделилось CO_2 при брожении в г	Кислотность в °Д	Несброженный сахар в бражке в %	
	А. С.	О. С.	Д. С.	М. А.*			мальтоза	декстрины
Asp. oryzae M (контроль)	38,4	12,8	0,83	26,5	6,60	0,5	0,68	0,15
„ „ № 28	32,9	13,4	0,79	10,2	6,80	0,4	0,77	0,17
„ „ № 10_2	38,8	11,6	0,84	17,8	6,53	0,4	0,68	0,15
„ „ № K_1	41,4	12,5	0,75	25,1	6,47	0,6	0,52	0,27
Asp. niger S (контроль)	1,48	1,07	0,60	65,9	6,6	0,4	0,68	0,12
„ „ № 5_1	2,12	0,86	0,44	55,8	6,7	0,5	0,68	0,10
„ „ № 6_1	1,54	1,35	0,71	78,0	6,80	0,4	0,74	0,05
„ „ № 8_1	1,81	1,52	0,79	72,2	6,60	0,3	0,76	0,08

* Активность мальтазы определялась по действию на 1%-ный раствор мальтозы и выражалась в единицах: 1 единица равна количеству мальтозы в миллиграммах расщепленного 1 г культуры за 1 час при 30°; активность амилазы и декстриназы выражена также в единицах; одна единица равна количеству расщепленного субстрата в граммах за 1 час при 30°.

нии. Установленный нами факт вызывает вопрос о том, какова роль мальтазы при гидролизе крахмала и может ли она при весьма низком содержании амилазы вызывать расщепление крахмала в условиях, когда брожение отсутствует.

Для решения этого вопроса нами был проведен опыт осахаривания (без брожения) 7%-ного раствора растворимого крахмала с учетом количества образующихся сахаров по мере протекания процесса гидролиза. Осахаривание проводилось препаратами ферментов, полученными осаждением водной вытяжки из культуры Asp. niger на отрубях 80%-ным спиртом. Параллельно велось осахаривание препаратами из культуры Asp. oryzae, из которой нам при помощи адсорбции амилазы на силикагеле удалось получить два совершенно различных по содержанию амилазы препарата: 1) препарат № 11, выделенный из элюата, имеющий очень высокую активность амилазы, но обедненный декстриназой и мальтазой; 2) препарат № 8, выделенный из фильтрата после адсорбции и почти не содержащий амилазы, но обладающий повышенной активностью декстриназы и мальтазы. Этот последний препарат имел такое же сочетание ферментов, как и препарат из Asp. niger.

Гидролитическая активность полученных грибных препаратов сравнивалась с амилазой из ячменного солода.

Для уточнения вопроса о составе образующихся сахаров во всех отбираемых пробах осахариваемого крахмала производилось осаждение 85%-ным спиртом (90 мл 95%-ного спирта на 10 мл раствора крахмала) с тем, чтобы отделить неосахаренный крахмал и декстрины, быстро прекратить действие ферментов и определять только сбраживаемые сахара (мальтозу и глюкозу). Применяемое нами определение амилолитических ферментов дает возможность количественно выражать их активность в условных единицах, а также рассчитывать в этих же единицах и дозировать вносимое для осахаривания количество ферментов,— прием, который в настоящее время широко используется при изучении ферментативного гидролиза крахмала и применяется для расчета количества солода в спиртовой промышленности [5].

В табл. 3 приведена активность амилолитических ферментов в выделенных нами препаратах и количество единиц ферментов, взятых для осахаривания 7%-ного крахмала.

Как видно из приведенных данных, препараты, выделенные из культур грибов Asp. oryzae и Asp. niger, также резко отличались по активности амилолитических ферментов, как это отмечено нами и для неочищенных культур на отрубях. Весьма интересен тот факт, что при помощи адсорбции удается получать препараты, обогащенные декстриназой и мальтазой и почти не содержащие амилазы (20 единиц вместо 1300), и, с другой стороны, удалить большую часть этих ферментов из препарата амилазы. Таким образом, мы имели возможность провести гидролиз крахмала резко отличными по составу ферментными системами и определять ход гидролиза и состав образующихся сахаров (табл. 4, рис. 1 и 2).

Ход процесса гидролиза крахмала изображен на рис. 1 в виде изменения (во времени) количества образовавшихся сбраживаемых сахаров в процентах от общего количества крахмала, присутствующего в растворе. Солодовая амилаза и препарат амилазы из Asp. oryzae, обедненный декстриназой и мальтазой, дали типичную кривую с резким нарастанием продуктов гидролиза в течение первых 30 минут и затем медленное их накопление по мере дальнейшего расщепления. Совершенно иначе протекал процесс, когда для осахаривания того же самого количества крахмала было взято не 60 единиц амилазы, а всего две и три единицы, и было увеличено количество мальтазы (табл. 3). При этом наблюдалось медленное и постепенное превращение крахмала в сбраживаемые сахара (не совсем плавное течение двух последних кривых объясняется вынуж-

денным изменением размерности времени). Основное положение, которое вытекает из анализа приведенных данных, сводится к тому, что для полного гидролиза крахмала совершенно необязательно вводить большое количество амилазы, так как гидролиз протекает с достаточной полнотой

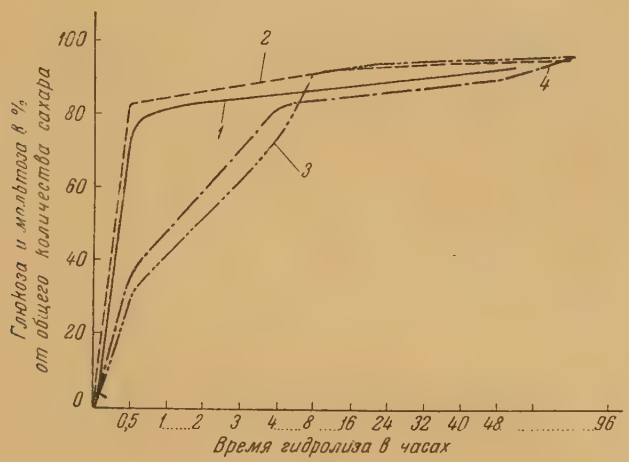


Рис. 1. Кривые гидролиза крахмала препаратами ферментов из культур плесеневых грибов Aspergillus

1 — солодовая амилаза; *2* — амилаза Asp. oryzae; *3* — амилаза Asp. niger; *4* — препарат из фильтрата после адсорбции

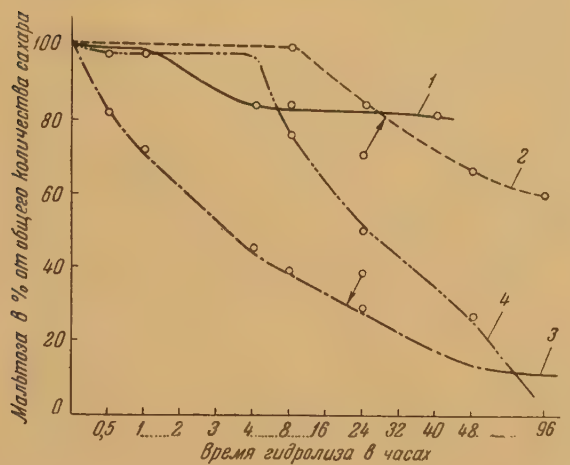


Рис. 2. Изменение состава сбраживаемых сахаров в процессе гидролиза крахмала

1 — солодовая амилаза; *2* — амилаза Asp. oryzae; *3* — амилаза Asp. niger; *4* — препарат из фильтрата после адсорбции

(96—97%) при резком сокращении этого фермента в реакционной смеси. Наблюдаемое нами ранее явление, сводящееся к получению высоких выходов спирта наряду с низкой активностью амилазы, что так характерно для культуры Asp. niger, получило в этих опытах достаточно убедительное объяснение. Достоверность выдвигаемого нами положения подкрепляется тем, что искусственно, при помощи адсорбции, полученное сочетание ферментов (препарат из фильтрата), где также было очень мало амилазы и достаточно декстриназы и мальтазы, также обеспечивает полное расщепление крахмала.

Таблица 3

Активность амилолитических ферментов в препаратах, выделенных из культур плесневых грибов Aspergillus и из солода

Из чего выделен препарат	Активность в ед. на 1 г сухого препарата *				Дано для осахаривания 7%-ного крахмала				
	А. С.	О. С.	Д. С.	М. А.	г препарата	А. С.	О. С.	Д. С.	М. А.
Из Asp. oryzae									
Из элюата № 11	1325	541	2,0	90	0,05	66	27	0,10	4,5
Из фильтрата после адсорбции № 8	20	12,5	4,8	129	0,15	3,0	1,9	0,70	19,4
Из Asp. niger	6,7	6,8	1,95	115	0,3	2,0	2,0	0,6	34,5
Из ячменного солода	283	246	1,2	22,5	0,2	60	49	0,24	4,5

* См. примечание к табл. 2.

Изменение количества и состава сахаров в процессе гидролиза крахмала различными препаратами ферментов

Время отбора проб	Из солода			Из Asp. oryzae препарат № 11			Из Asp. niger			Из фильтрата после адсорбции препарата № 8		
	мальтоза в %	глюкоза в %	сумма сахаров в %	мальтоза в %	глюкоза в %	сумма сахаров в %	мальтоза в %	глюкоза в %	сумма сахаров в %	мальтоза в %	глюкоза в %	сумма сахаров в %
2 мин.	1,28	0,0	1,28	2,10	0,0	2,10	0,72	0,16	0,88	0,40	0,0	0,40
30 „	5,07	0,0	5,07	5,35	0,0	5,35	1,94	0,43	2,37	2,38	0,0	2,38
1 час	5,47	0,0	5,47	—	—	—	1,82	0,70	2,52	3,06	0,0	3,06
4 часа	4,81	0,87	5,68	5,66	0,0	5,66	2,16	2,54	4,70	5,47	0,0	5,47
8 часов	4,95	0,82	5,77	5,95	0,0	5,95	2,28	3,53	5,81	4,31	1,29	5,60
24 часа	5,26	0,96	6,22	4,25	1,72	5,97	2,41	3,63	6,04	2,85	2,83	5,68
48 часов	5,07	1,16	6,23	4,05	1,93	5,98	0,80	5,35	6,15	1,75	4,29	5,89
96 „	—	—	—	3,74	2,41	6,15	0,76	5,37	6,15	0,38	6,10	6,48
Общее количество сахара после гидролиза с HCl	—	—	6,7	—	—	6,43	—	—	6,36	—	—	6,7

Следует отметить также и тот факт, что препарат гриба Asp. oryzae, в котором при помощи адсорбции удалось резко понизить содержание декстриназы и мальтазы, по характеру процесса гидролиза был аналогичен солодовой амилазе. В этом мы видим еще одно подтверждение тому положению, которое мы отмечали еще в самом начале работы с плесневыми грибами [7], а именно, что комплекс амилолитических ферментов, образуемых этими организмами, гораздо более разнообразен по сравнению с тем, что имеется в зерновых солодах.

Что же касается состава образующихся в результате гидролиза крахмала сахаров, то его можно поставить всецело в зависимость от содержания ферментов, дополняющих амилазу: в тех пробах, где мы ввели большое количество мальтазы, к концу расщепления мальтоза составляла только около 10% от всей суммы сахара, а с препаратом из солода и Asp. oryzae из элюата процесс гидролиза мальтозы протекал гораздо медленнее и даже к концу четвертых суток достиг только 20 и 40% (рис. 2).

Приведенные данные по изменению состава сахаров при гидролизе крахмала амилазой плесневых грибов опровергают также и то установившееся мнение, что конечным продуктом гидролиза крахмала плесневой амилазой является глюкоза. Наши данные говорят о том, что образование глюкозы является вторичным процессом, который зависит от наличия в препарате мальтазы и, возможно, декстриназы. Это подтверждается тем фактом, что в пробе крахмала, гидролизуемого амилазой Asp. oryzae из элюата, 88% крахмала было сначала превращено в мальтозу и образование глюкозы началось только через 8 часов. Возможно поэтому при длительном гидролизе многие исследователи обнаруживают глюкозу в качестве единственного продукта гидролиза крахмала амилазой плесневых грибов.

На этом основании можно также высказать предположение, что если бы удалось освободить грибную амилазу от сопутствующих ей других α-глюкозидаз, то основным продуктом гидролиза крахмала была бы мальтоза и лишь небольшое количество глюкозы, которое образуется при гидролизе тех разветвленных цепей крахмальной молекулы, которые содержат нечетное количество глюкозных остатков,— явление, наблюдавшееся Мирбеком (Myrbäck [10]) для солодовой α-амилазы.

Здесь следует указать, что механизм гидролиза, который доказан и общепринят для системы солодовых амилаз, нельзя перенести на расщепление крахмала амилазой плесневых грибов. Это особенно относится к тому случаю, когда полный гидролиз крахмала обеспечивается при весьма незначительном количестве собственно амилазы и при большом количестве мальтазы.

Механизм действия мальтазы еще недостаточно ясен, но ее роль, повидимому, не может быть сведена только к вторичному процессу расщепления мальтозы.

Логическим следствием из полученных данных является положение о том, что лучшие результаты осахаривания крахмала будут получены с такими формами грибов, которые будут на фоне высокой активности амилазы образовывать повышенное количество декстриназы и мальтазы. Поскольку уже имеющиеся культуры грибов обеспечивают полный гидролиз крахмала, дальнейшее повышение активности амилолитических ферментов в плесневых грибах должно привести либо к ускорению процесса осахаривания, либо к сокращению расхода препарата.

Все приведенные выше данные достаточно четко подтверждают резкое различие амилолитических систем у двух изучаемых видов плесневых грибов. Сочетание незначительной активности амилазы с высокой активностью мальтазы равноценно по своему гидролитическому действию обратному сочетанию, что и позволяет дать одинаковую оценку культурам этих организмов как амилолитическим препаратам.

Выводы

1. Культуры плесневых грибов Asp. oryzae и Asp. niger на искусственных и естественных средах резко различаются между собой по активности амилолитических ферментов: Asp. oryzae образует активную амилазу и проявляет пониженную активность мальтазы; в культурах Asp. niger образуется в 20—30 раз меньше амилазы на фоне повышенной активности мальтазы.

2. Несмотря на резкие различия в активности амилазы, оба вида грибов полностью осахаривают крахмал при брожении крахмалистых заторов, что приводит к одинаковым выходам конечных продуктов брожения.

3. При помощи адсорбции возможно разделить амилолитический комплекс ферментов гриба Asp. oryzae и получить препарат, почти не содержащий амилазы, но проявляющий значительную активность декстриназы и мальтазы, т. е. искусственно воспроизвести систему ферментов, образующихся в культуре Asp. niger.

4. Осахаривание 7%-ного раствора крахмала очищенными препаратами ферментов показало, что полный гидролиз крахмала достигается и без удаления продуктов реакции, при весьма незначительном количестве амилазы, но при повышенной дозировке декстриназы и мальтазы.

5. Роль мальтазы в процессе гидролиза крахмала не может быть сведена только к расщеплению мальтозы, но механизм ее действия еще недостаточно ясен.

6. Все музейные культуры плесневых грибов Aspergillus, повидимому, являются дикими формами и обладают активностью амилолитических ферментов, характерной для каждого вида. Дальнейшее повышение активности грибов может быть достигнуто только направленным воспитанием, что приведет к получению подлинно культурных форм этих весьма полезных организмов.

Всесоюзный научно-исследовательский институт спиртовой промышленности
Москва

Получено 25.VI.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вяткин В. В. Новый способ переработки цикория на спирт. Спиртоводочная промышленность, № 9, 13, 1940.
2. Вяткин В. В. и Станьков Х. З. Использование гриба Asp. niger для разжижения и осахаривания крахмалистого сырья. Неопубликованный отчет ВНИИСП за 1940 г.
3. Климовский Д. Н. и Родзевич В. И. Гидролиз крахмала при действии амилазы различного происхождения. Биохимия, **14**, вып. 1, 1949.
4. Климовский Д. Н. и Родзевич В. И. Амилолитические ферменты у аспергиллов. Микробиология, XIX, вып. 1, 1950.
5. Климовский Д. Н. и Родзевич В. И. Метод определения качества солода в спиртовой промышленности. Тр. ВНИИСП, вып. 2, 1951.
6. Прокошев С. М. Биохимия картофеля. Изд. АН СССР, 1947.
7. Фениксова Р. В. и Сегаль Р. Б. Применение Asp. oryzae для осахаривания крахмалистого сырья в спиртовом производстве. Микробиология, X, вып. 7—8, 1941.
8. Corman E. and Langlykke A. Action of mold enzymes in starch sacharification. Cereale Chem., **25**, No. 3, 190, 1948.
9. Le Mense, Corman E. van Lanen and Langlykke A. Production of mold amylase in submerged culture. J. Bact., **54**, No. 2, 1947.
10. Myrbäck K. Products of the enzymic degradation of starch and glycogen. Advances in carbohydrate Chemistry, **3**, 2, 1948.

МИКСОБАКТЕРИИ, ЛИЗИРУЮЩИЕ МИЦЕЛИЙ PENICILLIUM

Н. М. Авдиевич

Уже более пятидесяти лет внимание микробиологов привлекают бактерии, резко отличающиеся от остальных низших организмов, принадлежащие к классу Myxobacteriae. Этот интерес объясняется рядом причин.

Миксобактерии широко распространены в почве и воде и, несомненно, играют большую роль в минерализации растительных остатков, обладая активной целлюлозоразрушающей способностью [4, 6, 9].

Сложный цикл развития миксобактерий, включающий у большинства описанных представителей их стадию покоя (плодовые тела и цисты) и наличие ядерного вещества в виде морфологически постоянной, определенной структуры, представляет большой теоретический интерес, главным образом для установления филогении бактерий (Имшенецкий [4]).

До сих пор положение этой группы микробов в системе низших организмов остается неясным. Одни исследователи считают миксобактерии родственными серным бактериям, другие — синезеленым водорослям, третьи — рассматривают их как самостоятельную группу микробов (Шапошников [13]).

Не меньшее значение, и особенно практическое, имеет способность миксобактерий лизировать некоторые грибы [7], фитопатогенные бактерии [10], выделять антибиотические вещества [14], и самое интересное,— питаться бактериальными телами, как это установлено Имшенецким и Кузюриной [2]. Это явление «бактериотрофности» неизвестно у других бактерий.

Данная работа была предпринята с целью выделения из почвы и изучения микробов-антагонистов к грибу Penicillium

Материал и питательные среды

Материалом для выделения описываемой ниже культуры служила почва оранжереи Института физиологии растений АН СССР. Для выделения чистой культуры и последующего ее изучения нами применялись следующие среды.

Картофельный агар. 200 г очищенного и нарезанного кусочками картофеля кипятят в 1 л водопроводной воды в течение 30 минут; фильтруют отвар через вату; доводят его объем до 1 л и добавляют 2% агар-агара. Стерилизуют при 1 атм. 40 минут.

Голодный агар. Дестиллированная вода с 2% агар-агара. Дальневосточный агар-агар подвергается специальной обработке для освобождения его от примеси органических веществ.

Гетчинсон-глюкозный агар. K_2HPO_4 — 1,0 г; $CaCl_2$ — 0,1 г; $MgSO_4$ — 0,3 г: NaCl — 0,1 г; $FeCl_3$ — 0,01 г; $NaNO_3$ — 2,5 г; глюкоза — 5,0 г; дестиллированная вода — 1000,0 мл; агар-агар — 20,0 г; pH-7,2—7,3.

Гетчинсон-крахмальный агар. Тот же состав, что и в предыдущей среде, но вместо глюкозы, берут 2% крахмала, агара 1%.

Среда Гетчинсона и Клейтона с клетчаткой. Состав солей тот же, что и в предыдущей среде, но вместо глюкозы, клетчатка — полоски фильтровальной бумаги, опущенные до половины своей длины в пробирку с раствором солей.

Гуммиарабиковая среда. Гуммиарабика 0,5 г; агар-агара 1 г; водопроводной воды 100 мл.

Картофельный отвар. 200 г очищенного картофеля кипятят 30 минут в 1 л водопроводной воды. Затем фильтруют через вату. Полученный фильтрат разбавляют водопроводной водой до 1 л и доводят pH до 7,0—7,2.

Навозный агар. 10%-ный навозный отвар с 1% агара и 0,5% растворимого крахмала.

Навозный отвар готовился следующим образом: 100 г кроличьего навоза настаивались на 1 л водопроводной воды в течение 18 часов, после чего настой вместе с навозом кипятился 30 минут и потом отфильтровывался через вату.

Грибной агар. 50 г грибной пленки (Penicillium), выращенной в колбе на сусле, растирались в ступке. К полученной кашице прибавлялось 250 мл водопроводной воды и 2% агар-агара. Среда стерилизовалась при 1 атм. 40 минут.

Получение обогащенной культуры миксобактерий

При поисках микроба-антагониста к Penicillium chrysogenum нам удалось найти весьма интересную миксобактерию, отличающуюся некоторыми особенностями от миксобактерий, описанных в литературе.

Пользуясь методом «почвенных комочков», мы получили зоны лизиса на газоне P. chrysogenum. Для этого на пластинки картофельного агара наносили каплю водной суспензии конидий плесени и распределяли их по поверхности агаровой пластинки шпателем. Засеянные таким образом чашки ставились в закрытом эксикаторе (с водой на дне) в термостат при температуре 24°. Через двое суток вся поверхность агаровой пластинки зарастает мицелием гриба и на нее раскладывались смоченные водой комочки почвы диаметром в 2—3 мм, на расстоянии 2 см друг от друга в шахматном порядке. Зараженные почвой «газоны» выдерживались в термостате при температуре 24° несколько дней до появления зон лизиса вокруг комочков почвы.

Чтобы создать наиболее элективные условия для лизирующего организма, решили применить следующую методику: кусочки грибной пленки, а позже — мицелиальные шарики, образующиеся при глубинном проращивании конидий плесени, тщательно отмывались последовательно в нескольких порциях (по 100 мл каждая) стерильной водопроводной воды и помещались в пробирки с 4—7 мл стерильной воды. В такую пробирку вносили петлю материала, взятого из зоны лизиса гриба, образовавшейся вокруг комочка почвы, и ее (пробирку) ставили в термостат при температуре 24°. Через $1^1/_2$ суток кусочек мицелия лизировался почти полностью, оставались еле заметные обрывки его.

Из этой первой пробирки мы произвели пересев в другую такую же пробирку с описанной элективной средой и опять получили феномен лизиса. Рассев из последней пробирки на чашки Петри с картофельным агаром, Гетчинсон-глюкозным агаром, Гетчинсон-крахмальным агаром показал, что в данном случае мы имеем дело со смешанной культурой бактерий, содержащей миксобактерий.

Выделив из смешанной культуры 10 бактериальных штаммов, некоторые из которых были типа Pseudomonas, мы убедились при проверке их литической способности, что вышеупомянутый феномен вызывается миксобактерией, выделить которую в чистую культуру описанными методами [3, 7, 11] нам не удавалось.

Казалось вероятным, что можно избавиться от спутников интересующей нас миксобактерии частыми пересевами на «голодную» среду (водопроводная вода + мицелий гриба), в которой мицелий, не доступный спутникам, является единственным источником питания.

Однако это предположение не оправдалось. Уже в течение $1^1/_2$ лет мы производим периодически такие пересевы (всего 24 пересева) и спутники остаются в культуре.

Трудность выделения чистых культур миксобактерий объясняется, очевидно, тем, что слизь, окружающая клетки и колонии последних, является благоприятной средой для жизнедеятельности бактерий-спутников, а спутники в свою очередь приносят какую-то пользу миксобактериям и, таким образом, их взаимоотношения носят симбиотический характер.

Такое предположение вытекает из наблюдений многих исследовате-

лей и наших, говорящих о том, что миксобактерии в смешанных культурах растут лучше и быстрее, чем в чистых.

Выделение чистой культуры миксобактерий

Применение ряда методов, предложенных Солнцевой [11, 12] для выделения чистых культур миксобактерий, не увенчалось успехом. Поэтому мы решили по возможности избавиться от слизи, окружающей клетки и находящейся в колонии, так как слизь, как нам кажется, и является убежищем спутников. Для этого мы брали старую, подсохшую колонию. Из ее центра осторожно, тонкой острой иглой, не задевая основания колонии, снимали бактериальную «корочку», помещали ее в колбу с 20 мл стерильной водопроводной воды и встряхивали в течение 30 минут в качалке. Затем корочку переносили в следующую колбу с 20 мл стерильной водопроводной воды и опять встряхивали 30 минут и эту операцию повторяли 6 раз. Затем отмытая корочка помещалась на косой Гетчинсон-крахмальный агар и через сутки на нем появился желто-оранжевый налет.

Из культуры, выросшей на скошенном агаре, был произведен рассев и выделение чистой культуры из одной колонии. Для гарантии чистоты культуры выделение из одной колонии было повторено три раза.

Чистота полученной культуры миксобактерии была проверена микроскопически и высевами на МПБ и МПА. При этом ни на МПА, ни на МПБ роста не было, что характерно для типичных миксобактерий.

Культура, выделенная раньше другими методами, при посеве на МПБ давала муть, т. е. прорастали сопровождающие ее бактерии-спутники.

Характеристика миксобактерий

Молодые колонии на Гетчинсон-крахмальном агаре круглые, с крупнофестончатым краем желтого цвета с несколькими концентрическими кольцами оранжевого цвета, состоящими из цист.

Позже между центром и краем, но ближе к краю, образуется темно-оранжевый валик и, таким образом, в центре образуется блюдцеобразное углубление. Затем колония становится ржавокоричневого цвета, сильно ослизняется, так что углубление иногда исчезает и колония становится выпуклой, гладкой, блестящей, но кольцевое расположение цист сохраняется. В центре скопления цист образуются примитивные плодовые тела, без оболочки и цистофоров.

Молодая колония снимается с агара легко и полностью, так как прилипает к петле и тянется за ней, как расплавленная резина. Когда колония ослизняется, снять ее целиком нельзя.

Морфология клеток на различных средах неодинакова. На среде Гетчинсона с полосками клетчатки тонкие, мелкие палочки со слегка заостренными концами. На Гетчинсон-крахмальном и Гетчинсон-глюкозном агаре двухсуточные клетки имеют вид палочек размером 2,75 μ × 0,62 μ 1,75 μ × 0,37 μ иногда соединенные по две. Часто встречаются клетки, слегка изогнутые. В центре расположено круглое или овальное хроматиновое зерно (ядро.)

При культивировании миксобактерии в качалке на картофельном отваре (в колбе Эрленмейера на 300 мл с 50 мл отвара) молодые клетки имеют форму тонких мелких палочек, иногда соединенных по две, со слегка заостренными концами, с гомогенной, сильно хромофильной протоплазмой. С возрастом клетки увеличиваются в размере, становятся толще, концы их округляются, хроматин отмешивается и образует овальное или шаровидное ядро в центре клетки. Иногда оно находится у одного конца последней. Это, очевидно, бывает у вновь образовавшейся в результате перешнуровки клетки, у которой ядро еще не успело пере-

меститься в центр. Старые клетки (9—10) суток при глубинном выращивании в качалке сильно раздуваются, протоплазма и ядро их лизируются и остаются пустые клетки-тени.

Деление клеток миксобактерий происходит перетяжкой, при этом также делится и ядро. Это составляет одну из особенностей миксобактерий.

Подвижность клеток. Молодые формы обладают иногда очень быстрым поступательным движением, при котором клетка равномерно покачивается из стороны в сторону. В препарате подвижность клеток скоро прекращается. Некоторые клетки прикрепляются к стеклу одним концом, а другим продолжают совершать маятникообразные движения. Специальная окраска по Löffler для обнаружения жгутиков дала отрицательные результаты.

Культура хорошо растет при 24—28°; рост совершенно отсутствует при 36—37°.

Культуральные признаки. На МПА, МПБ, МПЖ, сусло-агаре, сусле-молоке, кусочках картофеля и картофельной желатине культуры образуют заметное вдавление агара. На гуммиарабиковой среде растет. На голодном агаре слабый рост. При посеве культуры на косой или в чашках Петри — Гетчинсон-глюкозный, Гетчинсон-крахмальный агар, уже через сутки появляется рост миксобактерий и на месте штриха агар вдавлен. Через несколько дней агар становится настолько мягким, что он при перевертывании пробирки или чашки сползает со стенок последних.

Рост культуры на Гетчинсон-крахмальном агаре сопровождается быстрым гидролизом крахмала, так что через сутки после посева среда, обработанная раствором Люголя, дает отрицательную реакцию на крахмал. На среде Гетчинсона с клетчаткой развивается хорошо, но полного растворения волокон не производит. При посеве на полоску фильтровальной бумаги, опущенную в солевой раствор Гетчинсона и Клейтона, через двое суток на границе между жидкостью и воздухом бумага желтеет, со временем становится яркооранжевой и через несколько дней в этом месте разрывается. Вся жидкость тоже приобретает оранжевую окраску. Плодовых тел на клетчатке не образуется.

Чистая культура описываемой в данной статье миксобактерии легко разрушает мицелий пенициллов. Мицелиальный шарик, тщательно отмытый от растворенных органических веществ и помещенный в пробирку со стерильной водопроводной водой, зараженный данной миколитической миксобактерией, уже через один-двое суток распадается на отдельные кусочки, а через несколько дней от шарика остаются лишь незначительные хлопья, представляющие собой не имеющие структуры остатки гиф.

Природа вещества, лизирующего грибы, не установлена. Оно не было выделено в чистом виде, а в опытах применялся фильтрат культуральной жидкости, полученный следующим образом. Миксобактерия выращивалась на картофельном отваре в колбах Эрленмейера в течение 6 дней в качалке (скорость вращения 120 оборотов в минуту.) После этого культуральная жидкость пропускалась через стерильный бумажный фильтр, а затем освобождалась от бактериальных тел свечой Беркефельда. Полученный фильтрат разливался в стерильные пробирки. Он имел нейтральную реакцию, обладал способностью лизировать грибы, но инактивировался полностью после пятиминутного кипячения. Это подтверждалось следующим опытом. Живой мицелиальный шарик пенициллла, помещенный в пробирку с фильтратом, лизировался так же, как и растущей культурой миксобактерии; шарик же, помещенный в пробирку с фильтратом прокипяченным, в течение пяти минут разросся в мицелиальную пленку.

Систематическое положение описанной миксобактерии

Вопрос о том, что́ считать главным систематическим признаком при диагностике и классификации миксобактерий, до сих пор решался двояко.

Стэниер [15] предложил систематизировать миксобактерии прежде всего по форме и величине клеток.

Имшенецкий и Солнцева [5] считают более правильным при классификации представителей этой группы исходить из морфологии плодовых тел, цист и микроцист, а также истории их развития.

Поэтому описываемый нами организм надо отнести к роду Sorangium, хотя он и образует плодовые тела более примитивные, чем другие представители этого рода, и вегетативные клетки мало укорачиваются перед образованием цист. Руководствоваться же только формой и величиной клеток в данном случае, как предлагает Стэниер, ошибочно. Против точки зрения Стэниера говорит и тот факт, что у разных видов рода Archangium и семейства Promyxobacteriaceae клетки имеют различную величину.

Из описания же выделенной нами миксобактерии следует, что даже один и тот же вид, в зависимости от питательной среды и условий культивирования, имеет клетки различной величины и формы.

Приношу глубокую благодарность проф. А. А. Имшенецкому за оказанную помощь и советы при проведении данной работы.

Выводы

1. Выделена чистая культура миксобактерии, обладающая рядом особенностей, отличающих ее от миксобактерий, описанных ранее.
2. Изолированная миксобактерия может быть отнесена к роду Sorangium.
3. Миксобактерия может использовать в качестве единственного источника питания и энергии мицелий Penicillium.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 3.VIII.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Имшенецкий А. А. О ядерном аппарате бактерий. Микробиология, XIV, 77, 1945.
2. Имшенецкий А. А. и Кузюрина Л. А. Питание микробов клетками других микроорганизмов. ДАН СССР, **67**, стр. 555, 1949.
3. Имшенецкий А. А. и Солнцева Л. И. Об аэробных целлюлозных бактериях. Изв. АН СССР, серия биол., 1115, 1936.
4. Имшенецкий А. А. и Солнцева Л. И. О миксобактериях, разлагающих клетчатку. Микробиология, VI, вып. 1, 1937.
5. Имшенецкий А. А. и Солнцева Л. И. О несовершенных формах миксобактерии. Микробиология, XVI, вып. 4, 1945.
6. Исаченко Л. и Вакенгут А. Несколько наблюдений над циклом развития организма, разлагающего клетчетку. Архив биол. наук, **32**, 476, 1932.
7. Кононенко Е. В. Метод выделения миксобактерий на живом мицелии гриба. Микробиология, VI, вып. 1, 1937.
8. Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов, М.—Л., 1949.
9. Мишустин Е. Н. Миксобактерии, разлагающие целлюлозу. Микробиология, VII, вып. 4, 1938.
10. Солнцева Л. И. О лизисе фитопатогенных бактерий, вызываемом Myxobacteriales. Микробиология, VIII, вып. 6, 1939.
11. Солнцева Л. И. Методы культивирования миксобактерий. Микробиология, VIII, вып. 8, 1939.
12. Солнцева Л. И. Биология миксобактерий. Микробиология, X, 505, 1941.
13. Шапошников В. Н. О значении физиологических признаков в систематике микроорганизмов. Микробиология, XI, 5, 1942.
14. Oxford A. E. a. Singh B. N. Factors contributing to the bacteriolytic effect of species of myxococci upon viable Eubacteria. Nature, **158**, 745, 1946.

ВЛИЯНИЕ ОТРАБОТАННОГО ГУМБРИНА НА МИКРОФЛОРУ СЕРОЗЕМНОЙ ПОЧВЫ

А. Н. Наумова и *Е. П. Громыко*

Из различных приемов, повышающих урожайность хлопчатника на сероземных почвах, большого внимания заслуживает применение отработанного гумбрина.

Отработанный гумбрин — отход нефтяной промышленности — получается при очистке нефтяных масел отбеливающей глиной (гумбрином). После очистки масел глина приобретает вид черного порошка и носит название отработанного гумбрина.

Данные полевых опытов, проведенные Гусейновым (1, 2) в Институте агрохимии и почвоведения Академии наук Азербайджанской ССР, показали, что отработанный гумбрин улучшает физические свойства тяжелых почв, препятствует образованию корки, уменьшает испарение влаги из почвы и улучшает условия питания растений. На почвах, удобренных отработанным гумбрином, значительно возрастает число полноценных всходов хлопчатника.

Опыты с внесением отработанного гумбрина широко начали проводиться в Азербайджане с 1949 г. на тяжелых землях. Отработанный гумбрин способствовал повышению урожайности хлопчатника.

Отдел почвенных микроорганизмов Института микробиологии АН СССР поставил целью выяснить влияние отработанного гумбрина на почвенную микрофлору, поскольку данный вопрос оставался до последнего времени неосвещенным.

Почвы Кура-Араксинской низменности, где производилась настоящая работа, представлены тяжелыми глинистыми и суглинистыми сероземами с сульфатно-хлоридным засолением.

Принята следующая классификация засоленных почв:

	Плотный остаток водной вытяжки в %
Слабо засоленные	0,25—0,5
Средне засоленные	0,5—1
Сильно засоленные	1—2
Солончак	ок. 2

Из-за тяжелого механического состава почвы на ее поверхности при выпадении осадков образуется прочная корка, затрудняющая появление всходов хлопчатника и вызывающая их гибель (Гусейнов [1, 2].)

Экспериментальная часть

Лабораторные исследования

Для разрешения некоторых вопросов, связанных с выяснением действия отработанного гумбрина на микрофлору почвы, мы поставили ряд лабораторных исследований.

Была взята сероземная почва, практически не засоленная. Опыты ставились в больших конических колбах. Почва увлажнялась до 60% от полной влагоемкости, и эта влажность поддерживалась до конца опыта. В опыте изучалось также влияние больших доз отработанного гумбрина.

Отработанный гумбрин вносился из расчета на влажную почву в следующих дозах (на 1 га):

0,1%, что соответствовало . . 3 т
0,3% „ „ . . 9 „
3% „ „ . . 90 „
15% „ „ . . 450 „

Отработанный гумбрин слабо разлагается в почве и при систематическом его применении может постепенно накопляться в ней. По мнению Гусейнова, «органическая часть отработанного гумбрина, попадая в почву, соединяясь с минеральной частью почвы, образует гумато-подобные соединения и поэтому постепенное накопление является положительным фактором».

Бактериологические наблюдения проводились через 10 дней, 24 дня и 7 месяцев после начала опыта. Результаты опыта приведены в табл. 1.

Таблица 1

Влияние отработанного гумбрина на микрофлору почвы

(Количество микроорганизмов в тысячах на 1 г)

Вариант опыта	Через 10 дней							Через 24 дня		
	общее число бактерий	число спорообразующих	актиномицетов	грибы				общее число бактерий	спорообразующих	актиномицетов
				общее число	Mucor	Aspergillus	Penicillium			
Контроль	6 400	1 660	15 600	16	2	4	3	6 100	930	18 700
Внесено гумбрина										
0,1%	4 900	660	34 800	11	3	3	2	5 500	1 630	52 400
0,3%	3 200	560	15 300	8	3	1	1	7 300	770	46 500
3%	6 800	500	107 400	14	9	2	1	7 500	1 150	153 200
15%	5 200	380	206 000	30	18	12	0	4 200	600	220 000

Через 7 месяцев										
грибы				общее число бактерий	спорообразующих	актиномицетов	грибы			
общее число	Mucor	Aspergillus	Penicillium				общее число	Mucor	Aspergillus	Penicillium
13	0	2	3	6 700	1 090	10 550	33,5	3,5	10	6,5
6	3	1	0,5	5 400	880	8 200	30	3,5	8,5	8,5
12	6,5	3,5	15	7 600	900	14 800	40	1,5	0	10
12,5	12,5	3,5	1,5	7 700	780	12 900	40	8,5	17	13
58	24,5	16	5	6 700	560	3 800	66,7	3,5	8,3	28,3

При микробиологическом анализе исходной почвы обнаружено: общее число бактерии 5700 (в тыс. на 1 г почвы); споровых бактерий 490 000, актиномицетов 2000, грибов 11. Грибы распределяются: Mucor 2,5, Aspergillus 2,5, Penicillium 6.

Как видно из табл. 1, внесение даже значительных количеств отработанного гумбрина в почву заметного угнетающего действия на ход микробиологических процессов не оказывает. Удобрение почв отработанным гумбрином действовало стимулирующим образом на развитие актиномицетов и отчасти грибной флоры в почве. Актиномицеты реагируют

заметнее на внесение гумбрина, очевидно, в силу того, что могут разлагать соединения, не доступные другим микроорганизмам (Красильников [3]).

В опыте первоначально наблюдалось некоторое уменьшение общего числа сапрофитных бактерий по сравнению с контролем. При более длительном выдерживании почвы численность бактериального населения в опытной почве повышалась до нормы.

Внесение отработанного гумбрина оказало очень хорошее влияние на развитие азотобактера. При анализе методом Виноградского исходная почва давала не более 80,8% обрастания комочков азотобактером. В почве с отработанным гумбрином по всем срокам анализа наблюдалось 100%-ное обрастание комочков почвы, высеянных на Эшби-агар.

Таблица 2

Влияние отработанного гумбрина на развитие азотобактера в сероземных почвах

(Число колоний на площади в 20 см²)

Степень засоления почвы	Контроль	С добавлением 1% отработанного гумбрина
Слабое	810	1 090
Среднее	280	340
Сильное	30	150

Для более точного выяснения влияния отработанного гумбрина на азотобактер мы поставили специальные опыты, в которых развитие этого микроба было учтено на почвенных пластинках методом Крючковой. Был проведен учет азотобактера в почвах с различной степенью засоленности, удобренных и неудобренных отработанным гумбрином. Данные приведены в табл. 2.

Как видно, отработанный гумбрин вполне определенно усиливает размножение азотобактера, что понятно, так как этот микроб может ассимилировать весьма сложные, в том числе ароматические соединения.

Нетрудно видеть, что засоление почвы сильно угнетает рост азотобактера. Это наблюдение подтверждает выводы Эффендиевой [5] и противоречит заключениям Сушкиной [4], по мнению которой развитие азотобактера усиливается в засоленных почвах.

В специальных опытах мы выяснили влияние отдельных фракций отработанного гумбрина на развитие азотобактера.

Строгоновым были выделены водная, спиртовая и эфирная фракции из отработанного гумбрина, которыми мы воспользовались для работы. Эти фракции в количестве 15 мл и добавлялись к 100 г почвы.

Опыты показали, что лучшее влияние на рост азотобактера оказывает водная фракция гумбрина. По данным Строгонова, эта же фракция отработанного гумбрина оказывала положительное влияние на прорастание хлопчатника.

Полевые исследования

Для изучения действия отработанного гумбрина были заложены полевые опыты с хлопчатником на сероземной почве с сульфатно-хлоридным типом засоления.

В опыты взяты следующие делянки:
1) контрольная — со слабым засолением, 0,4% по плотному остатку;
2) опытная — такая же, но с внесением отработанного гумбрина;
3) контрольная—с сильным засолением, 1,82% по плотному остатку;
4) опытная—такая же, но с внесением отработанного гумбрина

Удобрения (суперфосфат и селитра) вносились согласно агроправилам по хлопку.

Учет микрофлоры проводился нами в течение лета. С указанных делянок несколько раз брались почвенные пробы в пахотном горизонте

Таблица 3

Влияние отработанного гумбрина на микрофлору почвы

Вариант опыта	Дата анализа	Влажность в %	Общее число (в тыс. на 1 г почвы)			Нитрификация		% обрастаний азотобактера на Эшби-агаре	Целлюлозные	
			бактерий	актиномицетов	грибов	титр	активность		миксобактерии	грибы
Слабо засоленная почва без гумбрина	1.VI	6,05	2100	2375	158	100	0	44	40	36
	9.VI	16,5	4700	4152	385	100	++	100	44	0
	15.VI	7,30	3940	2896	43	100	++	80	20	0
	21.VI	21,23	3541	3398	360	100	+	100	84	4
	5.VII	6,85	5342	2700	49	100	+	100	48	8
	14.VII	14,50	1792	2380	41	100	++	100	64	20
	11.VIII	14,50	2641	3025	21	100	++	92	68	16
	25.VIII	21,75	2790	1570	45	100	++	100	56	0
Среднее			3356	2812	138	—	—	89	53	11
Слабо засоленная почва с гумбрином	1.VI	6,12	2160	1860	435	100	+	96	28	0
	9.VI	18,6	1592	4598	413	100	+	100	36	0
	15.VI	7,0	4412	4398	135	100	++	100	32	0
	21.VI	22,4	5076	4795	398	100	+	100	68	—
	5.VII	7,0	5365	3054	34	100	+	100	44	16
	14.VII	16,5	1726	4296	50	100	+	100	44	20
	11.VIII	15,0	1476	4876	29	100	+++	96	64	28
	25.VIII	21,6	2596	4385	48	100	+++	100	80	4
Среднее			3050	4032	193	—	—	99	49,5	8,5
Сильно засоленная почва без гумбрина	5.VII	6,75	1450	1820	27	10	0	12	80	16
	14.VII	17,4	3810	1611	65	100	+	28	64	36
	11.VIII	8,20	2800	2591	33	100	+	20	68	28
	25.VIII	20,0	1686	993	42	100	+	8	92	8
Среднее			2434	1753	42	—	—	17	76	22
Сильно засоленная почва с гумбрином	1.VI	7,51	349	1870	209	100	+	12	12	0
	9.VI	17,35	612	2531	276	10	+	12	48	0
	15.VI	6,71	2869	3399	110	100	+	60	84	0
	21.VI	19,4	3800	2700	356	100	+	80	80	0
	5.VII	6,86	2380	1845	23	10	+	80	100	24
	14.VII	15,5	1386	1445	25	100	+	72	48	16
	11.VIII	12,2	2390	1240	45	1000	+	64	88	8
	25.VIII	23,0	2710	1810	90	100	+	12	68	0
Среднее			2062	2105	141	—	—	49	66	6

для бактериологических анализов, начиная с 1.VI по 15.IX — в фазы выхода проростков, бутонизации, цветения и перед началом созревания. Бактерии учитывались нами на мясопептонном агаре (МПА), актиномицеты — на крахмало-аммиачном агаре и грибы на сусло-агаре. Состояние остальных групп микробов определялось по методу Виноградского.

В табл. 3 приводятся полученные данные.

Переходя к рассмотрению данных по учету микрофлоры на различных делянках, мы можем отметить, что особой разницы в количестве бактерий между вариантами нет; в одни сроки оказалось больше бактерий в почвах с отработанным гумбрином, в других — в контрольных

делянках. Сильное засоление снижает общее число бактерий. Максимальное нарастание их падает на стадию бутонизации и цветения хлопчатника. Внесение отработанного гумбрина вызывает, однако, значительные сдвиги в некоторых группах микроорганизмов: очень резко повышается число актиномицетов, значительно увеличивается число грибов.

Для определения активности азотфиксации почвы проведен учет азотобактера на агаре Эшби при посеве комочками и на почвенных пластинках — по Виноградскому в видоизменении Крючковой. Азотобактер обнаруживается в значительном количестве на делянках со слабым засолением и особенно удобренных отработанным гумбрином. На сильно засоленных делянках азотобактера было очень мало. Количество его возрастало при внесении отработанного гумбрина. Влияние отработанного гумбрина на азотобактер сохраняется в течение всего периода вегетации хлопчатника.

Процесс нитрификации мы определяли в жидкой среде методом титрования. Внесение отработанного гумбрина положительно отзывается на процессе нитрификации. На делянках со слабозасоленной почвой с отработанным гумбрином этот процесс протекает всегда более активно.

Некоторое увеличение минерального азота, получающегося из распадающегося отработанного гумбрина, и активация распада органических соединений почвы вызывают усиление процесса нитрификации.

Интенсификация процесса нитрификации при внесении отработанного гумбрина может быть объяснена двояко. Во-первых, распад составных частей отработанного гумбрина приводит к накоплению в почве некоторого количества аммиака, необходимого для развития нитрификаторов. Во-вторых, и, очевидно, главным образом, отработанный гумбрин стимулирует размножение в почвах групп микробов, ассимилирующих трудноминерализуемые, в том числе перегнойные, соединения почвы. К подобным микроорганизмам мы относим актиномицеты, грибы из рода Aspergillus и азотобактер. Их деятельность может повысить запас подвижного азота в почве. Эти микроорганизмы могут ассимилировать труднодоступные, в том числе и ароматические соединения, чем, возможно, и объясняется их размножение при внесении отработанного гумбрина.

В засоленных почвах процесс нитрификации подавляется, и прибавка отработанного гумбрина здесь не сказывается сколько-нибудь заметно.

Учет целлюлозоразлагающих микроорганизмов мы производим подсчетом колоний, на клетчатке, положенной на агаризованную среду Гетчинсона в чашках Петри и зараженной исследуемой почвой. Результаты учета показывают, что внесение отработанного гумбрина существенно не повлияло на данную группу микроорганизмов. За вегетационный сезон число целлюлозных микробов увеличивалось примерно в те же сроки вегетации, которые отмечены и для общего числа бактерий. Наибольшее развитие целлюлозных миксобактерий наблюдалось в периоды наиболее бурного роста растений. Как указывает Красильников, в эти периоды создаются для них более благоприятные условия существования и размножения за счет усиленного развития корневой системы. Миксобактерии с яркожелтым пигментом, которые содержатся почти во всех почвах, являются в наших опытах одними из показательных организмов. Они обильнее всего представлены в сильно засоленных почвах.

Таким образом, совокупность полученных данных позволяет сделать заключение, что отработанный гумбрин оказывает определенное влияние на некоторые группы почвенной микрофлоры. Его внесение усиливает размножение в почве актиномицетов, отчасти грибов и азотобактера. Наблюдается также усиление энергии нитрификации. Общее число бактерий при удобрении почв отработанным гумбрином практически не изменяется.

Работа была проведена под общим руководством проф. Е. Н. Мишустина.

Выводы

1. Внесение отработанного гумбрина заметно не сказывается на изменении общего числа бактерий в почве. Однако оно вызывает значительное увеличение количества некоторых важных групп микроорганизмов, особенно, актиномицетов, азотобактера и отчасти грибов, из которых наиболее активно развиваются виды Aspergillus.

2. Внесение отработанного гумбрина повышает количество азотобактера и на сильно засоленных почвах.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 1.XII.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гусейнов Д. М. Отработанный гумбрин как удобрение. Соц. земледелие, № 79 (558), 1950.
2. Гусейнов Д. М. Применение отработанного гумбрина в целях повышения урожайности сельскохозяйственных культур. Почвоведение, № 12, 735, 1950.
3. Красильников Н. А., Крисс А. Е. и Литвинов М. А. Влияние корневой системы на микроорганизмы почвы. Микробиология, V, вып. 2, 1936.
4. Сушкина Н. Н. Эколого-географическое распространение азотобактера в почвах СССР. Изд. АН СССР, М. 1949.
5. Эффендиева С. А. Установление засоленности почв при помощи азотобактерной пробы. Микробиология, XIII, 147, 1944.

ОРГАНИЧЕСКИЕ КИСЛОТЫ КАК ПРОДУКТЫ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА АЗОТОБАКТЕРА

Г. Н. Блинков

Известно, что органические кислоты являются обычными продуктами углеводного обмена для большинства растительных организмов. В отношении азотобактера на этот счет имеются противоречивые указания. Beijerinck и Delden [6] отмечают, что на питательных средах с углеводами и высшими спиртами азотобактер органических кислот не образует и питательных растворов не только не подкисляет, но даже иногда их несколько подщелачивает, что наблюдается, например, при наличии в питательной среде нитратов и может быть объяснено восстановлением нитратов в аммиак. Изучая продукты жизнедеятельности азотобактера, не обнаружил органических кислот и Krzemieniewski [8]. Stoklasa [10] утверждает, что в процессе углеводного обмена азотобактер образует молочную, уксусную, масляную и иногда муравьиную кислоты, а также этиловый спирт, водород и углекислый газ. Pražmowski [9] констатировал подщелачивание среды азотобактером и объяснил это отщеплением от органических веществ гидроксила, дающего щелочные продукты. Выводов Стоклазы не подтвердили также Jones [7] и Омелянский [5]: среди продуктов жизнедеятельности азотобактера они не обнаружили ни кислот, ни спиртов, ни водорода.

Омелянский выражает большие сомнения в отношении данных Стоклазы и считает азотобактер энергичным щелочеобразователем. Разбирая вопрос о прочности симбиоза, наблюдаемого между азотобактером и Clostridium Pasteurianum, Омелянский объясняет целесообразность такого симбиоза прежде всего контрастом свойств этих бактерий, в том числе и тем, что Clostridium Pasteurianum является энергичным кислотообразователем, а азотобактер — в такой же мере щелочеобразователем; комбинация кислотообразующих и щелочеобразующих свойств микробов предохраняет среду от резкого изменения pH.

Блинков [1, 2, 3] на основании своих исследований установил, что при выращивании азотобактера на слабокислых, нейтральных и слабощелочных средах с сахарозой или глицерином pH сред не изменяется, но при выращивании его на резко щелочных средах pH значительно меняется в сторону подкисления, что дает основания к выводу о способности азотобактера в процессе углеводного обмена на щелочных средах накапливать органические кислоты.

Целью данного исследования является проверка прямыми методами образования культурой азотобактера органических кислот за счет углеводов.

Экспериментальная часть

Исследования проводились в стерильных условиях над чистыми культурами Azotobacter chroococcum № 54 и Azotobacter vinelandii (флуоресцирующий), полученными из Института микробиологии АН СССР. Культура азотобактера выращивалась в обычных чашках Петри, залитых по 30 мл силикагелем или 2%-ным агаром с питательной средой следующего состава: водопроводной воды — 1 л, сахарозы — 20 г, сернокислого калия — 1 г, сернокислого магния — 0,5 г, фосфорнодвукалиевой соли —

1 г. Среды подщелачивались раствором КОН и доводились приблизительно до pH = 11. Посев производился суспензией молодой культуры азотобактера, выращенного в пробирках с агаровой средой Омелянского. Засеянные чашки выдерживались в термостате при 27°.

При постановке опытов и перед анализами определялся pH сред электрометрическим методом. Для этого готовились водные вытяжки путем шестичасового настаивания в чашке субстрата, залитого 3 мл дестиллированной воды. Определения проводились в четырехкратной повторности.

Из органических кислот определялись муравьиная, уксусная, масляная и молочная, которые обычно чаще всего распространены в культурах микроорганизмов. Для анализов использовалось 50 чашек с трехнедельной культурой азотобактера. В этом возрасте у Azotobacter chroococcum наблюдалась уже интенсивная пигментация, что является показателем полного истощения питательного материала. Перед анализом проверялась чистота культуры путем микроскопирования. В случае обнаружения загрязнений, что наблюдалось крайне редко, чашки браковались. Культура смывалась, и для получения раствора органических кислот использовался только субстрат. Субстрат заливался равным объемом воды, к которой добавлялось 3 мл толуола, и настаивался в течение 6 часов при периодическом перемешивании. Экстракт сливался, отфильтровывался и выпаривался примерно до объема 100 мл, затем подкислялся серной кислотой в присутствии метил-виолета и отгонялся с водяным паром; при этом объем отгона доводился до 3 л. Отгон нейтрализовался, выпаривался до небольшого объема, после чего использовался для определения муравьиной кислоты. Затем в отгоне муравьиная кислота разрушалась хромовой смесью и остаток летучих кислот отгонялся с водяным паром. После нейтрализации и выпаривания до небольшого объема новый отгон использовался для определения уксусной и масляной кислот. Молочная кислота извлекалась посредством обработки эфиром остатка после первой отгонки.

Качественные определения органических кислот производились посредством соответствующих реакций, которые описаны в практических руководствах по биохимии и микробиологии. При испытании первого отгона на муравьиную кислоту неизменно получалась реакция по Финке и реакция восстановления $AgNO_3$. Во втором отгоне всегда получались реакции на уксусную кислоту: кровавокрасное окрашивание при прибавлении раствора $FeCl_3$ и грушевая эссенция при прибавлении этилового спирта. В этом же отгоне проверялось также наличие масляной кислоты посредством реакции Агулона; результаты всегда получались отрицательные. При испытании нелетучего остатка на молочную кислоту отчетливо получались реакции по Дениже, Уффальману и Боасу, а после перевода молочной кислоты в уксусный альдегид и отгонки последнего получалась иодоформенная проба и реакция восстановления $AgNO_3$.

Таблица 1

Качественное определение органических кислот в субстрате из-под азотобактера

Культура азотобактера	Субстрат	pH сред		Кислоты			
		вначале	в конце	муравьиная	уксусная	масляная	молочная
Az. chroococcum	Агар 2%-ный	11,07	9,13	+	+	—	+
	Силикагель	10,87	9,02	+	+	—	+
Az. vinelandii	Агар 2%-ный	11,03	9,04	+	+	—	+
	Силикагель	10,93	8,97	+	+	—	+

Результаты качественных определений органических кислот сведены в табл. 1, в которой положительные реакции обозначены знаком +, а отрицательные знаком —.

Табл. 1 показывает, что на агаровой и кремнекислой среде с сахаром Azotobacter chroococcum и Azotobacter vinelandii при высокой щелочности образуют муравьиную, уксусную и молочную кислоты, вследствие чего в сильной степени снижается pH сред (в данных опытах примерно с 11 до 9).

Наличие уксусной и масляной кислот во втором отгоне проверялось не только качественными реакциями, но также методом фракционной отгонки по Дюкло. При этих анализах наряду с вытяжкой из субстрата в отдельных опытах использовалась также вытяжка из субстрата вместе с культурой азотобактера. Результаты фракционной отгонки представлены в табл. 2.

Таблица 2

Фракционная отгонка кислот по Дюкло

Культура азотобактера	Исследуемый материал	Пошло 0,01 *N* КОН на титрование фракции в мл									
Az. chroococcum	Агар. субстрат	2,6	2,8	2,9	3,3	3,5	3,8	4,1	4,5	5,9	8,4
	Кремнекислый субстрат	3,2	3,3	3,5	3,7	4,0	4,2	4,6	4,9	6,7	9,1
Az. vinelandii	Агар. субстрат	2,8	3,1	3,2	3,5	3,7	3,9	4,2	4,5	6,2	8,7
	Кремнекислый субстрат	3,0	3,2	3,3	3,6	3,9	4,0	4,4	4,8	6,5	8,9
Az. chroococcum	Субстрат с культурой	19	20	21	21	24	26	30	32	37	46

Сличая по табл. 2 результаты титрований, мы видим, что в последующих фракциях по сравнению с предыдущими количество пошедшей на титрование щелочи неуклонно повышается, что является характерным признаком для уксусной кислоты.

Качественные определения и фракционная отгонка дают основания утверждать, что из летучих кислот азотобактер накапливает за счет углеводов муравьиную и уксусную кислоты, но не накапливает масляной кислоты.

В отдельных опытах производились количественные определения органических кислот методом титрования. Азотобактер в этих случаях выращивался на агаровых средах, первоначальный pH которых был около 11. Для анализов использовались субстрат и культура азотобактера в отдельности. Растворы органических кислот подготовлялись так же, как и для качественных определений. Результаты анализов приводятся в табл. 3.

Таблица 3

Количество органических кислот, накапливаемых на агаровой среде Azotobacter chroococcum

еделяемые кислоты	Накоплено кислот в мг на 1 г использованного сахара		
	в субстрате	в культуре	всего
Муравьиная	3,40	13,44	16,84
Уксусная	9,64	17,84	27,48
Молочная	3,14	7,50	10,64

По табл. 3 мы видим, что азотобактер на щелочных средах накапливает довольно значительные количества органических кислот: из расчета на 1 г сахарозы он накапливает муравьиной кислоты 16,84 мг, уксусной кислоты 27,48 мг и молочной кислоты 10,64 мг. При этом в культуре содержится кислот гораздо больше, чем в субстрате: муравьиной — в 3 с лишним раза, молочной — в 2 с лишним раза и уксусной — почти в 2 раза. Такая разница может быть объяснена неодинаковым распределением кислот и неодинаковой степенью их извлечения при экстрагировании. При анализах вытяжек из культуры азотобактера не исключена возможность образования некоторых кислот, особенно муравьиной, чисто химическим путем за счет углеводов, содержащихся в слизи азотобактера, но такой способ происхождения кислот исключается в отношении вытяжек из субстрата, особенно из силикагеля.

Из использованных мной методов некоторые очень специфичны; таковы, например, реакция по Финке для муравьиной кислоты: реакция по Дениже для молочной кислоты и фракционная отгонка до Дюкло, дающая характерные кривые титрования для уксусной и масляной кислот. Следовательно, полученные мной данные об образовании азотобактером в щелочных условиях органических кислот за счет углеводов не вызывают никаких сомнений. Отсюда понятна несостоятельность взгляда, согласно которому азотобактер считается абсолютным щелочеобразователем. Подщелачивание сред возможно, например, при выращивании азотобактера на солях органических кислот и щелочных металлов вследствие использования азотобактером анионов и отщепления катионов солей; на это указывает в своей работе Виноградский [4], это было подтверждено и работой Блинкова [2]. При питании же за счет сахара или глицерина азотобактер неизменно подкисляет щелочные среды.

Можно предполагать, что за счет углеводов азотобактер образует органические кислоты при любой реакции среды, но особенно эта способность проявляется в условиях высокой щелочности, что можно рассматривать как полезное приспособление, так как путем накопления кислот создается более благоприятная для развития азотобактера реакция среды [2]. Отрицательной стороной превращения значительного количества углеводов в кислоты и их использования для нейтрализации щелочной среды является то, что вследствие этого азотобактер в значительной мере лишается энергетического материала и это приводит к снижению продуктивности азотофиксации [2].

Выводы

1. Азотобактер в зависимости от условий питания может быть и щелочеобразователем и кислотообразователем: при питании солями органических кислот и щелочных металлов азотобактер подщелачивает среды, а при питании в щелочных условиях углеводами и глицерином он в значительной мере подкисляет среды.

2. Подщелачивание сред с солями органических кислот происходит несомненно вследствие потребления азотобактером анионов и отщепления щелочных катионов солей, а подкисление сред с углеводами и глицерином — вследствие накопления азотобактером органических кислот за счет используемых органических веществ.

3. Исследования автора данной статьи позволяют утверждать, что в процессе углеводного обмена на щелочных средах азотобактер накапливает муравьиную, уксусную и молочную кислоты.

Томский государственный
педагогический институт

Получено 8.I.1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Блинков Г. Н. Влияние реакции среды на интенсивность азотфиксации и рост азотобактера. Микробиология, XVII, 49, 1948.
2. Блинков Г. Н. Рост азотобактера и азотфиксация в условиях кислой и щелочной среды. Микробиология, XX, 330, 1951.
3. Блинков Г. Н. Взаимосвязь между азотобактером и реакцией среды. Ученые записки Томского педагогического института, VII, 135, 1951.
4. Виноградский С. П. Метод почвенной микробиологии, примененный при изучении азотобактера и нитрифицирующих бактерий. Успехи биологической химии, вып. XIII, 18, 1937.
5. Омелянский В. Л. Связывание атмосферного азота почвенными микроорганизмами. Петроград, 1923.
6. Beijerinck M. W. u. van Delden. Ueber die Assimilation des freien Stickstoffs durch Bakterien. Ztbl. Bakt., 9, 3, 1902.
7. Jones D. N. A morphological and cultural study of some Azotobacter. Ztbl. Bakt., II Abt., 38, 14, 1913.
8. Krzemieniewsky S. Physiologische Untersuchungen über Azotobacter chroococcum. Bull. intern. de l'Acad. des Sciences de Cracowie, S. 746, 1907.
9. Pražmowski A. Die Entwicklungsgeschichte, Morphologie und Cytologie des Azotobacter chroococcum Beijer. Ztbl. Bakt., II Abt., 33, 292, 1912.
10. Stoklasa J. Beitrage zur Kenntnis der chemischen Vorgänge bei der Assimilation des elementaren Stickstoffs durch Azotobacter und Radiobacter. Ztbl. Bakt. II Abt., 21, 484, 1908

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕРМОСТОЙКИХ ДРОЖЖЕЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РЖАНОГО ХЛЕБА

К. А. Кирова

В отечественной литературе накоплен обширный материал по изучению микроорганизмов заквасок ржаного теста, в результате чего хлебопекарная промышленность обогатилась новыми штаммами молочнокислых бактерий и дрожжей, полностью оправдавших себя в условиях производства.

Однако вопрос о микрофлоре готового хлеба в литературе освещен недостаточно, так как предполагалось, что высокая температура выпечки хлеба губительная для микроорганизмов. Так, Трисвятский [7] считает, что в начальных стадиях выпечки хлеба происходит бурное развитие микроорганизмов, по мере же повышения температуры в тесте погибают все вегетативные формы, так как температура мякиша достигает 100°. Тем не менее Ратнер и Фалуниной [6] обнаружена жизнеспособная микрофлора в мякише ржаного хлеба. Николаев и Шульц [3], изучая микроструктуру хлеба, наблюдали также за микроорганизмами хлеба в процессе его выпечки.

Однако приведенные работы не освещают с необходимой полнотой вопрос о микрофлоре ржаного хлеба.

В настоящей работе мы поставили перед собой задачу выделить и изучить микрофлору хлеба; в этом сообщении подробно излагаются данные только о дрожжевой флоре.

Прежде чем перейти к рассмотрению микрофлоры хлеба, необходимо кратко осветить условия, в которых находится кусок теста — хлеба во время выпечки и поведение в нем бродильной микрофлоры. Если в начале тестоведения (опара) дрожжи активно размножаются, то в дальнейших его стадиях (тесто, расстойка, начало выпечки) превалирует процесс брожения, ведущий к разрыхлению теста, а позже хлеба. Разделанное тесто после расстойки поступает в пекарные камеры. Выпекается хлеб при температуре 230—280° (Ауэрман [2]). Помещенный в камеру кусок теста быстро увеличивается в объеме, но с повышением температуры этот процесс резко замедляется и, наконец, прекращается. Опуская комплекс процессов, происходящих при выпечке хлеба, кратко остановимся на поведении в нем бродильной микрофлоры. Дрожжевые клетки при прогревании теста до 35° ускоряют брожение до предельной величины, при дальнейшем прогревании теста до 45° газообразование уменьшается, при 50—60° практически газообразование прекращается. Молочнокислые бактерии также в начале выпечки бурно накапливают молочную кислоту, но при прогревании теста до 60° они погибают (Трисвятский [7]).

Во внешних слоях при образовании корки хлеба, где температура близка к 180—200°, быстро погибают и вегетативные и спороносные формы. Однако ввиду плохой теплопроводности теста тепло медленно достигает центра мякиша (Ауэрман [1]). Температура любого слоя мякиша не превышает 98°. Таким образом, можно считать, что, хотя в мякише жизнедеятельность бродильной микрофлоры практически приостанавливается, в нем все же могут оставаться отдельные жизнеспособные клетки.

Методика выделения чистых культур дрожжей

Исходным материалом для выделения чистых культур дрожжей служил формовой ржаной хлеб. Мы задались целью выделить из хлеба чистые культуры дрожжей, которые, естественно, должны быть весьма термоустойчивы. Хлебный мякиш, взятый стерильно из центра хлеба, растирался и замачивался в стерильном сусле при температуре 30° в течение 24—48 часов. После предварительного микроскопирования производился посев в чашки Петри на сусло-агар. Сусло употреблялось солодовое 10° Балг. Для выращивания культур применялась также мучная, самоосахаренная заварка 1 : 3. Температура культивирования 30°. Полученные штаммы выделялись из одной клетки, после чего культуры сравнивались между собой по морфологическим и культуральным признакам. Для более детального исследования нами были отобраны два наиболее эффективных штамма. Для выделения молочнокислых бактерий производились одновременно посевы на те же среды, к которым предварительно добавлялся стерильный мел. Кроме дрожжей с бродильными свойствами и молочнокислых бактерий, в мякише были обнаружены: дикие формы дрожжей (розовые), различные плесневые грибы, кокковые формы, картофельная палочка. Из корки ржаного хлеба выделялись плесени, сарцины, кокки, палочковидные формы, которые попадали на нее в результате поверхностного загрязнения; бродильная микрофлора в корке отсутствует.

Культуральные признаки выделенных чистых культур дрожжей

Из выделенных дрожжей, как оказалось при дальнейшем их изучении, одни принадлежат к виду Saccharomyces minor, поэтому мы их обозначили условно m^p, что значит minor ржаные. Выделенные дрожжи оказались мелкими — размеры клеток от 2,5 до 5 μ. Форма клеток круглая или слегка овальная, почкование некоторых клеток происходит на двух полюсах; гликогена мало. Расположены клетки недлинными цепочками — по 3—4 клетки. На жидких средах пленка на поверхности не появляется; образуется зернистый, хлопьевидный, хорошо оседающий осадок. Штрих на сусло-агаре желтовато-белого цвета с слегка ворсистыми краями. Гигантская колония на сусло-желатине матово-белая, с несколько вдавленной, центральной частью. Края колонии едва исчерчены радиальными штрихами (рис. 1).

Рис. 1. Гигантская колония на сусло-желатине. Штамм m^p

Гигантская колония на сусло-агаре в центре желтоватая, края белые, блестящие, слегка завубрены. Желатина не разжижается. Споры образуются на гипсовых блоках и на среде Городковой. Количество спор в сумке от 2 до 4.

Дрожжи m^p сбраживают: сахарозу, глюкозу, фруктозу, галактозу. Особенно интенсивно сбраживается сахароза. Они не сбраживают: лактозу, маннит, арабинозу, декстрин; очень слабо сбраживают мальтозу (для анализа брался химически чистый препарат мальтозы). Оптимальная температура развития дрожжевых клеток устанавливалась по следующей методике.

Солодовое сусло 10° Балг. разливалось в бродильные сосуды Эйнгорна — Смита, в которые после стерилизации вносилась односуточная чистая культура дрожжей в количестве 1 мл. Опыт ставился при темпе-

ратуре 26, 28, 30, 32, 34, 36°. Наблюдения проводились через 6, 12 и 24 часа. Результаты опыта учитывались по количеству выделенной углекислоты и по числу дрожжевых клеток в 1 мл. При этом выяснилось, что максимальное выделение углекислоты происходит при 30—32°. Следовательно, для штамма m^p оптимальная температура брожения 30—32°, что говорит о повышенном температурном оптимуме выделенного штамма, по сравнению со штаммом Saccharomyces minor, описанным в литературе [4]. Температура отмирания устанавливалась прогреванием односуточной культуры на сусле в течение 10 минут в тонкостенных алюминиевых пробирках. Контроль производился пересевом в свежую питательную среду (жидкую и плотную). Через 24, 48 и 72 часа проверялся рост культуры. Оказалось, что температура отмирания клеток лежит в пределах 60—65°.

В качестве источника азотистого питания были испытаны глицин, мочевина, сернокислый аммоний, пептон, аспарагин, дифениламин, которые вносились в количестве 1% в синтетическую среду следующего состава: 0,5 г KH_2PO_4, 0,025 г $MgSO_4$, 0,002 г $FeCl_3$, 5 г глюкозы на 100 мл воды. Оказалось, что хорошо усваиваются аминный, амидный и протеиновый азот в виде глицина, аспарагина, мочевины и пептона, несколько хуже усваивается аммиачный азот в виде сернокислого аммония и, наконец, совсем не усваивается азот, связанный с фенильной группой, в виде дифениламина.

Исследуемые дрожжи проверялись на кислотоустойчивость по отношению к молочной, уксусной, масляной и серной кислотам. Кислота вводилась в солодовое сусло или мучную болтушку. Опыт производился в бродильных сосудах Эйнгорна — Смита при 30°. Учет действия кислоты проверялся по выделению углекислого газа и подсчетом количества дрожжевых клеток в 1 мл. В результате опытов оказалось, что молочная кислота в пределах 0,5 до 1,0% активирует дрожжи. Начиная от 1,0% молочная кислота тормозит развитие дрожжей, особенно в начальной стадии брожения. К концу брожения действие разных доз молочной кислоты сглаживается. Начиная от 1,5% молочной кислоты брожение замедляется, при концентрации молочной кислоты в 5% практически брожение прекращается. При микроскопировании оказалось, что дрожжевые клетки при концентрации кислоты 5% агглютинируются, образовавшиеся почки не отделяются от материнской клетки.

Уксусная кислота (60%) вводилась от 0,01 до 1,0%. При концентрации 0,02—0,05% дрожжи разбраживаются (через 12—24 часа), при концентрации кислоты от 0,1% и выше через 3 часа наступает резкое угнетение брожения и падение числа живых клеток. Масляная кислота при концентрации от 0,05 до 1,0% убивает дрожжи, при концентрации кислоты в 0,005% дрожжи еще медленно бродят. Серная кислота (уд. вес 1,84) вводилась от 0,1 до 1%. При концентрации кислоты от 0,5 до 0,6% дрожжи остаются жизнеспособными только в течение 15 минут. При более длительном воздействии (12—24 часа) дрожжевые клетки погибают.

Из приведенного фактического материала следует, что из испытанных кислот только молочная кислота благоприятна для данных дрожжей.

Влияние различных концентраций этилового спирта на дрожжи

Опыты проводились на солодовом сусле 10° Балг. при температуре 30°. Этиловый спирт крепостью в 96° вводился в концентрациях от 1 до 15% (объемных). Начиная с 8% спирта брожение замедляется и, наконец, при концентрации в 10% брожение прекращается.

Определение подъемной силы штамма m^p

Подъемная сила дрожжей определялась методом Островского [5]. Она оказалась равной 22, т. е. дрожжи можно считать удовлетворительными. Выделенный штамм, относимый нами к виду Sacch. minor, обла-

дает высокой кислоустойчивостью, хорошо сбраживает сахарозу, что существенно для ржаного теста, богатого этим сахаром.

В отличие от штамма Sacch. minor, употребляемого в хлебопечении, штамм m^p слабо сбраживает мальтозу. Это свойство, повидимому, возникло в результате адаптации к среде в условиях производства.

Второй штамм дрожжей, выделенный из ржаного хлеба, мы условно обозначаем c^p, подразумевая под этим Sacch. cerevisiae ржаные. Эти дрожжи быстро и легко разбраживают солодовое сусло. Клетки их средней величины — от 4,5 до 9 μ. Форма клеток овальная, расположены они поодиночно. На солодовом сусле образуют кольцо и пленку. Осадок крупный, хорошо оседающий. Штамм c^p образует споры на среде Городковой и на гипсовых блоках. Количество спор от 1 до 4 в сумке. Форма спор круглая. Штрих на сусло-агаре белый, блестящий, края слегка ворсистые. Гигантская колония на сусло-желатине неправильной формы с волнистыми краями. Центральная зона возвышается и окружена валиком. От валика до краев колония исчерчена концентрическими и радиальными штрихами (рис. 2).

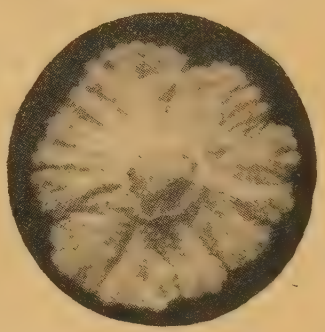


Рис. 2. Гигантская колония на сусло-желатине. Штамм c^p

Гигантская колония на сусло-агаре круглая, белая, блестящая, со слегка зазубренными краями. Желатину не разжижает. Температурный оптимум лежит в пределах 38—40°. Температура отмирания лежит в пределах 65—70°. Таким образом, штамм c^p можно отнести к термофильным вариантам. При определении физиологических свойств штамма c^p применялась та же методика, что и для штамма m^p.

Из углеводов дрожжи c^p сбраживают глюкозу, фруктозу, сахарозу, галактозу, мальтозу. Не сбраживают: лактозу, маннит, арабинозу, декстрин. В отношении азотистых веществ выяснено, что дрожжи с легко используют глицин, пептон, аспарагин, мочевину, сернокислый аммоний. Дифениламин не ассимилируется.

Оптимальные значения реакции среды определялись культивированием дрожжей на сусле с введением цитратного и фосфатного буферов при pH от 3,0 до 8,0. Дрожжи c^p бродят при pH от 2,7 до 7,0.

Оптимальная зона pH для брожения лежит между 3,5—5,0. По отношению к различным кислотам штамм c^p существенно не отличается от штамма m^p . Дрожжи хорошо выдерживают присутствие молочной кислоты, концентрацию которой в наших опытах мы доводили до 1,5%. Они выносят высокие концентрации этилового спирта включительно до 10—12 объемных процентов.

Испытание бродильной активности штаммов m^p и c^p

Бродильная активность проверялась на солодовом сусле 10° Балг. при температуре 40° для штамма c^p и 30° для штамма m^p . Опыт производился в сосудах с затворами с серной кислотой.

Сравнительная бродильная активность штаммов m^p и c^p

Наименование штамма	Потери в весе в г	Выход спирта		Разница в плотности сусла и отброда в ° Балг.
		% весовой	% объемный	
m^p	0,65	0,95	1,20	2,0
c^p	3,15	3,82	4,80	7,50

Из таблицы следует, что штамм c^p является хорошим бродильщиком, тогда как m^p значительно отстает, это является характерным для расы Sacch. minor.

Определение подъемной силы штамма c^p

Определение подъемной силы штамма c^p производилось по методу Островского.

Подъемная сила для штамма c^p равняется 17 минутам, что характеризует дрожжи, как хорошие.

На основании полученных данных штамм c^p можно отнести к виду Sacch. cerevisiae. Однако у полученного штамма имеются свои характерные особенности. Так, дрожжи c^p, кроме устойчивости к кислоте и спирту, интересны своим отношением к высоким температурам. Выделенный штамм c^p имеет температурный оптимум 38—40°. Температура отмирания его также лежит далеко за пределами обычных констант, а именно 65—70°. В связи со значительным сдвигом температурного оптимума изменена и морфологическая характеристика клетки: протоплазма уплотнена, дрожжи энергично накапливают жир. Более детальное функционально-морфологическое исследование выделенных штаммов, а также результаты их испытания в производственных условиях будут опубликованы особо.

Выводы

1. В печеном ржаном хлебе сохраняется жизнеспособная бродильная микрофлора.
2. Выделенные из хлеба дрожжи по своим свойствам могут быть отнесены к Saccharomyces minor и Saccharomyces cerevisiae.
3. Выделенные штаммы обладают повышенным температурным оптимумом и таким образом могут быть отнесены к термостойким дрожжам.
4. Термостойкость выделенных штаммов расширяет возможности повышения температуры тестоведения в целях ускорения выпечки хлеба.

Киевский технологический институт
пищевой промышленности
им. А. И. Микояна

Получено 8.II.1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ауэрман Л. Я. Технология хлебопечения. Пищепромиздат, стр. 267, 1948.
2. Ауэрман Л. Я., Лыков А. В. и Гинзбург А. С. Процесс выпечки хлеба, Пищепромиздат, стр. 7, 1948.
3. Николаев Б. А. и Шульц Н. П. Микроструктура хлеба. Труды ВНИИХП, вып. 6, стр. 26, 1933.
4. Островский А. И. Жидкие пекарские дрожжи. Пищепромиздат, стр. 31, 1948.
5. Островский А. И. Технолого-химический контроль хлебопекарного производства. Пищепромиздат, стр. 221, 1949.
6. Ратнер М. И. и Фалунина З. Ф. Ускоренный метод выведения закваски. Пищевая промышленность, вып. 7—8, стр. 51, 55, 1944.
7. Трисвятский Л. А. Микроорганизмы зерна и муки. Заготиздат, стр. 148, 1941.

О БАКТЕРИЦИДНЫХ СВОЙСТВАХ ЗЕЛЕНЫХ ЛИСТЬЕВ РАСТЕНИЙ

Х. Л. Галикеев

Согласно исследованиям Токина, листья деревьев выделяют вещества, обладающие бактерицидными свойствами. Нас интересовал вопрос о бактерицидном действии листьев различных пород деревьев в естественных условиях.

Опыты были поставлены в летний период в загородной местности с листьями березы, липы, клена, дуба, рябины и ели. Для исключения действия солнечных лучей использовались листья, находящиеся на теневой стороне. Ветка с листьями средних размеров маркировалась белой ниточкой. Для контрольного бактериологического посева срывался пинцетом один лист. Посев производился путем отпечатка на поверхность питательной среды.

Для опытов был использован лабораторный штамм белого стафилококка. Взвесь микробов 2 млрд. густоты равномерно разбрызгивалась пульверизатором на обе стороны листа. Через различные промежутки времени листья срывались стерильным пинцетом, и тут же производился посев путем отпечатка обеих сторон листа на плотную питательную среду.

На отпечатке, сделанном через один час после заражения, получался сплошной рост колоний белого стафилококка. В последующие часы рост становился менее интенсивным,, и уже через 6—8 часов на отпечатках листьев некоторых деревьев имелись лишь единичные колонии. На отпечатках, полученных от 6—8 игл ели, уже через 6 часов роста стафилококков не наблюдалось. После 18 часов во всех опытах были получены отрицательные результаты.

Листья деревьев	Время посева									
	Тотчас после разбрызгивания	Через 10 мин.	30 мин.	1 час	2 часа	3 часа	6 час	8 час.	10 час.	18 час.
Березы	+	+	+	+	+	+	+	Един. колонии	—	—
Липы	+	+	+	+	+	+	+	То же	—	—
Ели	+	+	+	+	+	+	~	—	—	—
Клена	+	+	+	+	+	+	+	+	Един. колонии	—
Дуба	+	+	+	+	+	+	+	+	То же	—
Рябины	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—

В посевах-отпечатках контрольных листьев (без заражения) обнаружены только спороносные палочки и небольшое количество пигментных кокков. Ни в одном случае патогенная флора не была найдена. Количество колоний сапрофитных микробов на отпечатках колебалось в следующих пределах: у липы 20, березы 28, рябины 27, ели 2, дуба 21.

Установив бактерицидное действие свежих листьев на деревьях, мы поставили опыты с увядшими листьями. После разбрызгивания куль-

туры стафилококка листья срывались стерильным пинцетом и помещались в чашки Петри.

Чашки с листьями сохранялись в лаборатории при комнатной температуре и на рассеянном свету. Через различные промежутки времени производился посев путем отпечатка на поверхность плотной среды. При

Отпечаток листа березы через 10 минут после заражения известью белого стафилококка

этом оказалось, что стафилококки остаются жизнеспособными в течение более одного месяца. Кроме того, нами изучалась микрофлора листьев на деревьях, растущих в одном из районов города с оживленным движением людей и транспорта. Во всех случаях методом отпечатков было установлено наличие лишь сапрофитных спороносных палочек и ни в одном случае не обнаружена патогенная флора.

Выводы

На основании проведенной работы можно полагать, что зеленые листья деревьев оказывают бактерицидное действие в отношении белого стафилококка. Полный бактерицидный эффект наблюдается у игл ели через 6 часов, у листьев березы и липы — через 8 часов и листьев клена и дуба — через 10 часов.

На листьях деревьев как в загородных условиях, так и в самом городе патогенные микроорганизмы не обнаружены.

Центральный институт
усовершенствования врачей
Москва

Получено 17.XII.1951 г.

ВЛИЯНИЕ ФИТОНЦИДОВ ЧЕСНОКА НА ВОЗБУДИТЕЛЯ МУСКАРДИНЫ ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА*

Т. Т. Ованесян

Опыты Токина [4] по выявлению протистоцидных особенностей полыни и можжевельника установили довольно широкие колебания в токсичности фитонцидов, выделяемых разными видами того же растения. Липецкая [2] обнаружила различную токсичность фитонцидов разных сортов лука для спор возбудителя каменной головни ячменя Ustillago Hordei Kell. et Sw. Более того, одни и те же сорта лука в различных почвенно-климатических условиях в Алтайском крае и в Томской области значительно различаются по своим фитонцидным свойствам.

В свете этих исследований наши опыты [3], четко установившие фитонцидные свойства чеснока по отношению к Beauveria bassiana, возбудителя мускардины тутового шелкопряда, потребовали дальнейших уточнений в смысле установления сравнительной токсичности различных сортов чеснока для практического их использования в борьбе с названным заболеванием.

При изучении токсических свойств различных чесноков нами была принята следующая методика: сухие споры гриба вносились на 30 минут в чашку Петри, на крышке которой с внутренней стороны была нанесена чесночная кашица в количестве 1 г.

После 30-минутной экспозиции споры переносились в каплю пивного сусла для проращивания во влажной камере при 26—27°. Подсчет спор, проросших за 24 часа, давал возможность судить о степени токсичности испытуемого сорта чеснока.

При более продолжительном действии чеснока затруднительно получить сравнимые данные, так как у большинства штаммов гриба споры не прорастают после 60-минутного воздействия.

Чесноки одного подвида были нами отобраны из пяти районов, резко отличающихся друг от друга по почвенно-климатическим условиям и по расположению над уровнем моря: Гальского (Западная Грузия), Сталинирского (Южная Осетия), Боржомского и Агарийского (Восточная Грузия) и Аллавердского (Армянское плоскогорье). Результаты испытаний активности фитонцидов приведены в табл. 1.

Как видно из данных табл. 1, 30-минутное воздействие всех испытанных чесноков вызывает снижение жизнеспособности спор по сравнению с контролем. Наиболее токсичным оказался гальский чеснок, который за тот же срок полностью инактивирует споры гриба.

Устойчивость различных штаммов гриба к чесноку проверена методом одновременного посева в одну и ту же чашку Петри с сусловым агаром 9 испытуемых нами культур Beauveria bassiana, выделенных из 8 районов Грузии, и одной, полученной из Ташкента.

Чеснок наносился на внутреннюю поверхность крышки чашки Петри, которая заменялась новой стерильной после установленной экспозиции: 1, 2, 3 часа и т. д.

Чеснок для испытания взят наименее токсичный — агарийский.

После одночасового действия чеснока прекратили рост культуры

* В выполнении данной работы принимали участие М. А. Скродзская, которой приношу свою благодарность.

Таблица 1

Влияние 30-минутного воздействия различных чесноков на споры

Район произрастания чеснока	Количество непроросших спор через 24 часа в %
Стрелкующийся чеснок Гальского р-на	100
„ „ Сталинирского „	58
„ „ Боржомского „	84
„ „ Агарийского „	45
„ „ Аллавердского „	88
Контрольные споры без чеснока	0

самтредская, зугдидская, каспская и абашская, через два часа — цхакаевская и ташкентская, а через три часа теряют способность прорастать все остальные, кроме батумской, которая гибнет только через четыре часа.

Устойчивость культуры гриба к чесноку не связана со степенью ее вирулентности. Последняя у разных штаммов грибов также сильно варьирует. Это установлено нами при сравнительной проверке вирулентности имеющихся у нас 9 штаммов гриба методом одновременного заражения 9 партий гусениц тутового шелкопряда соответственной споровой суспензией одного титра (35 спор в поле зрения при окуляре 15 и объективе 40).

Результаты проверки сведены в табл. 2.

Таблица 2

Вирулентность разных штаммов гриба

Район выделения культуры гриба	Количество гусениц, погибших от мускардины, в %
Цхакая	20
Самтредия	55
Зугдиди	50
Каспи	35
Батуми	15
Абаша	20
Тбилиси	15
Ташкент	85

Таблица 3

Токсичность различных видов чеснока

(Результаты 30-минутного действия)

Вид чеснока	Район произрастания чеснока	Количество погибших спор в %
Нестрелкующийся	Чохатаури	98
Стрелкующийся	Гали	91
„	Агара	48

Приведенные в табл. 2 данные указывают, что культуры, выделенные из различных мест, обладают разной вирулентностью (от 15 до 85%). Отмечается полное отсутствие связи между вирулентностью данного штамма гриба и его устойчивостью к чесноку.

Различные виды чеснока также отличаются своей токсичностью.

По классификации Кузнецова [1] культурные виды чеснока делятся на два подвида:

1) стрелкующийся чеснок;

2) чеснок, не образующий стрелок.

В Грузии преобладает чеснок, образующий стрелки. Нестрелкующийся чеснок встречается редко и разводится в Чохатаурском районе Западной Грузии. Наши опыты (табл. 3) показали, что токсичность

нестрелкующегося чеснока превосходит таковую всех испытанных нами стрелкующихся чесноков.

Выводы

1. Разные сорта чеснока в зависимости как от вида, так и от района их произрастания обладают разной токсичностью против спор.
2. Различные штаммы возбудителя мускардины отличаются как по своей вирулентности, так и по устойчивости к фитонцидам чеснока.
3. Эти особенности следует учесть при практическом использовании фитонцидов чеснока в борьбе с мускардиной тутового шелкопряда.

Тбилисский научно-исследовательский институт шелководства

Получено 2.IV.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кузнецов А. В. Руководство по аппробации сельхоз. культур. V, 397, 1948.
2. Липецкая А. Д. Влияние фитонцидов на споры возбудителя каменной головни ячменя. ДАН СССР, 70, № 6, 1946.
3. Ованесян Т. Т. Влияние фитонцидов на возбудителя мускардины тутового шелкопряда. Доклады ВАСХНИЛ, вып. 9, 1949.
4. Токин Б. П. Фитонциды. 1948.

О ВОЗБУДИТЕЛЕ БАКТЕРИОЗА ПОЧАТКОВ КУКУРУЗЫ

Ф. Е. Немлиенко

Бактериоз початков представляет собой широко распространенное, но мало изученное заболевание кукурузы; неясным, в частности, является вопрос о возбудителе этой болезни.

Первые, очень краткие сведения о бактериозе початков встречаются в 1932 г. у Чернецкой [12]. Она дает краткое описание болезни и сообщает о размерах ее в Северной Осетии, указывая при этом, что возбудителем болезни считается Aplanobacter stewarti McCulloch. Эта бактерия, как известно, вызывает бактериальное увядание кукурузы — болезнь, широко распространенную в Америке и являющуюся в СССР объектом внешнего карантина.

Лобик [8], работы которого относятся к 1933 г., уделил бактериозу початков сравнительно большое внимание и не сомневался в бактериальной природе болезни, но совершенно не занимался изучением его возбудителя и не привел названия его. Поэтому осталось неизвестным, какую бактерию он считал возбудителем бактериоза початков.

В других работах, опубликованных после Великой отечественной войны [11], возбудителем бактериоза початков также называется Aplanobacter stewarti, хотя указаний на исследования по этому вопросу не приводится.

Автор настоящей работы еще в 1936 г. [10] указывал, что бактериоз початков не аналогичен бактериальному увяданию кукурузы, однако истинную причину болезни в то время установить не удалось, и только в 1947—1950 гг. был выявлен и изучен возбудитель бактериоза початков кукурузы. Результаты этих работ излагаются ниже.

Симптомы бактериоза початков резко отличаются от симптомов бактериального увядания. Основным различием между ними является местный характер первого заболевания и диффузный характер второго. При бактериозе початков поражаются только зерновки, на которых образуются вдавленные, часто морщинистые или язвообразные желто-бурого цвета пятна, окруженные темносерой каймой; другие органы растения совершенно не затрагиваются. Бактериальное увядание представляет собой типичный трахеобактериоз, поражающий сосудистую систему, что приводит к увяданию и постепенному засыханию всего растения. Наиболее достоверным признаком второго заболевания считается окрашивание проводящих пучков в желтый цвет и выделение из них при поперечном разрезе стебля капель тягучей желтой слизи [5, 11, 15], что совершенно отсутствует при поражении бактериозом початков.

При бактериальном увядании возбудитель болезни по сосудистым пучкам может проникнуть в семена, где скопляется в сосудах и в эндосперме между клетками. В этом случае иногда оболочка семени частично разрушается и на ней образуются трещинки или язвочки размером около 1—2 мм, которые располагаются на свободной стороне зерновки [14]. Однако поражение семян при бактериальном увядании проявляется редко и не считается характерным симптомом заболевания.

Образование на кожуре зерновок язвочек при бактериальном увядании кукурузы, повидимому, и явилось причиной того, что некоторые авторы отождествили ее с бактериозом початков. Однако внешние признаки поражения обоими бактериозами неодинаковы: при бактериальном увядании кожура на язвочках зерновки частично разрушена, а при бактериозе початков она всегда целая и только в центре пятна иногда заметно маленькое от укуса насекомым отверстие, через которое произошло заражение.

Для выявления возбудителя бактериоза початков нами было выделено более 200 чистых культур микроорганизмов из больных зерновок кукурузы, полученных из различных колхозов и совхозов Украинской ССР. При этом применялся обычный метод: пораженные зерновки после поверхностной стерилизации разрезались на кусочки, которые переносились в чашки Петри с питательной агаровой средой. Через два-три дня культивирования при температуре 26—28° вокруг кусочков вырастали небольшие слизистые колонии бактерий, из которых производился рассев на чашках Петри с последующим выделением в пробир-

ки чистых культур для изучения. В качестве питательной среды обычно использовался картофельный агар, на котором изучавшиеся бактерии росли хорошо.

В результате проведенной работы были выделены культуры бактерий, почти не отличавшиеся между собой по внешнему виду и по биохимическим свойствам.

Искусственное заражение початков кукурузы выделенными бактериями производилось следующим образом: у молодых початков в конце периода молочной зрелости отворачивались обертки, и на коронке обнаженных зерновок делался слабый укол тонкой стерильной иглой; к надколотым зерновкам прикладывался небольшой ватный тампон, смоченный в водной суспензии десятидневной культуры бактерий. Наличие под оберткой увлажненной ватки значительно повышало количество удачных заражений — ватка создавала длительный контакт инфекции с зерновкой и обеспечивала в первые два-три дня повышенную влажность на участке початка, где происходило заражение. Приложенная ватка прижималась к зерновкам ранее отвороченными от початка обертками. На зараженный початок надевался изолятор — мешочек из пергаментной бумаги, который снизу завязывался шпагатом. Это предохраняло увлажненную ватку от быстрого высыхания и защищало початок от естественных заражений, которые могли бы путать картину.

Заметные на-глаз маленькие пятна вокруг укола на зерновках начинали появляться через четыре-пять дней. На восьмой-десятый день пятна увеличивались до размеров 3—4 мм в диаметре и приобретали на различных зерновках всю гамму переходов, которая встречается в естественных условиях: вдавленность, морщинистость, темную кайму и пр. При помещении таких зерновок во влажную камеру они обычно разрушались целиком и содержимое их превращалось в слизь, при этом кожура сохранялась неповрежденной. В полевых условиях полного разрушения эндосперма не происходит, повидимому, вследствие перехода его в связи с дальнейшим развитием и созреванием зерновки в состояние, не поддающееся воздействию бактерий.

Искусственные заражения зрелых зерновок, у которых эндосперм затвердел, в большинстве случаев были неудачны. Пятна на них или совсем не образовывались, или вокруг места укола образовывались очень узкие побуревшие участки, мало напоминающие типичные поражения. Заражение удавалось только при повреждении кожуры зерновки тонкой иглой, сквозь целую кожуру инфекция не проникала.

В лабораторных условиях пятна образовывались на большинстве зараженных зерновок, в поле же количество удачных заражений обычно не превышало 50%, причем пятна на зерновках получались несколько меньших размеров, чем в условиях лаборатории.

В таблице приводятся данные несколько раз повторявшегося опыта с искусственным заражением описанным выше методом в лабораторных и в полевых условиях.

Выделение бактерий из пораженных в результате искусственного заражения зерновок дало положительные результаты: выделенные из таких зерновок культуры бактерий как по морфологическим, так и биохимическим свойствам были аналогичны тем, которыми производилось заражение.

Выделенная культура представляет собой спороносную, грамположительную короткую подвижную палочку с закругленными концами. На МПА она дает серовато-белые, с тусклым полуматовым блеском колонии, вначале гладкие с фестончатыми краями, несколько позже — морщинистые. На МПБ образуется мощная беловато-серая морщинистая пленка, всползающая по краям пробирки, слабая муть, слабый осадок; при подкислении бульона уксусной кислотой пленка развита несколько

Таблица

Искусственное заражение в лабораторных условиях			Искусственное заражение в полевых условиях		
№ початка	заражено зерновок в початке	% удачных заражений	№ початка	заражено зерновок в початке	% удачных заражений
1	50	92,1	11	50	52,0
2	52	90,3	12	42	42,8
3	46	69,5	13	48	37,5
4	48	66,6	14	50	56,0
5	56	92,6	15	50	40,0
6	50	84,0	16	52	30,7
7	46	69,5	17	45	35,6
8	50	62,0	18	47	42,5
9	50	72,0	19	50	16,0
10	50	72,0	20	50	24,0

слабее, мути нет. На гороховом агаре рост обильный, колонии крупноморщинистые. На ломтях картофеля колонии вначале слизистые, позже крупноморщинистые, серовато-белые. Желатину разжижает, молоко пептонизирует, но не свертывает. Крахмал разлагает. На сахарозе кислотообразование и слабое газообразование. Нитраты не восстанавливает, сероводород и аммиак образует слабо. Микроб является аэробом. Оптимальная температура для роста 26—35°, максимальная около 50°, минимальная 6—8°.

Морфологические данные и биохимические свойства выделенной бактерии чрезвычайно сходны с таковыми у Bac. mesentericus vulgatus Flügge. При сравнении с подробным описанием этой бактерии у Бургвица [3] бросается в глаза аналогия также в деталях, не отмеченных другими авторами (всползание пленки по краям пробирки на бульоне, образование пленки и скопление осадка на дне пробирки при разжижении желатины, мощный рост на бобовом агаре и др.).

Крупным расхождением в описании бактерии, изучавшейся Бургвицем, и бактерии, выделенной из больных зерновок кукурузы, является отсутствие у первой способности разлагать крахмал и хорошо выраженная способность к этому у нашей бактерии. Эта способность определялась по образованию большой просветленной зоны вокруг штриховых колоний на крахмальной агаровой среде после обработки раствором Люголя. Данные Бургвица по этому вопросу находятся в противоречии также с данными других авторов, отмечающих, что Bac. mesentericus vulgatus крахмал разлагает [4, 7].

Сходство основных морфологических и биохимических признаков бактерии, выделенной из больных зерновок кукурузы, с Bac. mesentericus vulgatus, воспроизведение картины поражения при искусственных заражениях зерновок чистой культурой этой бактерии и последующее выделение ее из таких зерновок позволяют считать указанную бактерию возбудителем бактериоза початков.

Сравнение морфологических и биохимических данных выделенного возбудителя бактериоза початков и возбудителя бактериального увядания кукурузы показывает, что они совершенно противоположны по важнейшим признакам: спорообразованию, окраске по Граму, росту на бульоне, агаре, разжижению желатины, цвету колоний и т. д. Это еще раз подтверждает, что Aplanobacter stewarti, которую иногда считают возбудителем бактериоза початков, никакого отношения к этой болезни не имеет.

В литературе имеются неоднократные указания на способность широко распространенного сапрофита Bac. mesentericus vulgatus разви-

ваться на живых тканях растений, вызывая их заболевания. Ячевский [13] на основании работ Горовиц-Власовой пришел к выводу, что Bac. mesentericus vulgatus и Bac. solaniperda участвуют в поражении клубней картофеля мокрой гнилью. Бургвиц [3] описал заболевание пестичных цветов тыквы, заключающееся в размягчении и загнивании завязей, возбудителем которого является Bac. mesentericus vulgatus. Продолжительность этого заболевания ограничивается периодом цветения, а процесс загнивания может распространяться на стебель всего на 2—3 см от цветка.

По данным Кочура [6], бактериальная пятнистость свеклы, сильно поражающая это растение в стадии двух-трех пар листьев, вызывается тремя видами бактерий — Bac. butyricus, Bac. mesentericus vulgatus и Bac. mycoides. Муравьев [9] в списке микроорганизмов, развивающихся на сахарной свекле, приводит эту же бактерию при описании некроза сосудисто-волокнистых пучков корня, корнееда свеклы и бактериальной пятнистости листьев.

Авакян [1] описала для Армении новую болезнь — бактериальное побурение абрикосов, возбудителем которого по ее исследованиям является Bac. mesentericus vulgatus. Этой болезнью поражаются плоды и листья абрикосов на протяжении сравнительно продолжительного периода вегетации. Авакян считает, что под длительным воздействием высокой температуры произошел переход непатогенной сапрофитной формы этой бактерии в патогенную форму. Она же установила, что наблюдаемое в Армении бактериальное побурение кабачков также вызывается этой бактерией [2]. Болезнь разрушает завязи, плоды и листья кабачков.

Исследованное нами заболевание початков кукурузы вызывается этой же бактерией, причем болезнью поражаются только молодые початки на протяжении сравнительно короткого периода их развития.

Указанные примеры поражения различных растений Bac. mesentericus vulgatus нами рассматриваются как отдельные этапы в процессе превращения этой бактерии из сапрофита в паразит. На низших ступенях эволюции паразитизма она поражает только ткани растений с замедленной жизнедеятельностью (клубни картофеля в период хранения). Усиливая и закрепляя ряд свойств, позволяющих развиваться на живом субстрате, бактерия постепенно приобретает способность поражать ткани растений, находящиеся в процессе активной жизнедеятельности, сначала на протяжении короткого (цветы тыквы, молодые листья свеклы, молодые початки кукурузы), а потом и более длительного промежутка вегетации растения (листья, завязи, плоды абрикосов и кабачков). В результате Bac. mesentericus vulgatus становится организмом со свойствами, присущими типичным фитопатогенным бактериям, теряя или нестойко удерживая при этом некоторые присущие ей ранее свойства. Так, форма, поражающая абрикосы, обладая высокой патогенностью к этому растению, в ряде случаев не обладает способностью к спорообразованию [2]. Таким путем, повидимому, из сапрофитов возникли многие бактерии, относящиеся в настоящее время к группе фитопатогенных микроорганизмов.

Выводы

1. Встречающиеся в литературе указания, что бактериоз початков кукурузы вызывается Aplanobacter stewarti McCulloch, не соответствуют действительности.

2. Возбудителем бактериоза початков кукурузы является одна из форм Bac. mesentericus vulgatus Flügge с недостаточно выраженными фитопатогенными свойствами.

3. Поражение початков кукурузы Bac. mesentericus vulgatus мож-

но рассматривать как один из этапов в процессе перехода этой бактерии от сапрофитного к паразитному образу жизни.

Украинский научно-исследовательский
институт зернового хозяйства
Днепропетровск

Получено 10.X.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авакян С. А. Бактериальное побурение абрикосов. Микробиологический сборник АН Армян.ССР, вып. 11, 1946.
2. Авакян С. А. Бактериальное побурение кабачков. Микробиологический сборник АН Армян.ССР, вып. 5, 1950.
3. Бургвиц Г. К. Бактериальное поражение цветов тыквы. Болезни растений, XVI, № 1, 43, 1927.
4. Горовиц-Власова Л. М. Определитель бактерий. М., 1933.
5. Израильский В. П. (ред.) Бактериальные болезни растений. М., 1952.
6. Кочура О. И. Возбудители дырчатой пятнистости листьев сахарной свеклы. Научные записки ВНИС, 5—6, 1936.
7. Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов. М.— Л., 1949.
8. Лобик А. И. Современное состояние вопроса о болезнях и повреждениях кукурузы на Северном Кавказе. Тр. Сев.-Кавказского института защиты растений, 1, вып. 2, 1933.
9. Муравьев В. П. Болезни сахарной свеклы и меры борьбы с ними. Свекловодство, т. III, ч. II, 1938.
10. Немлиенко Ф. Е. Основні заходи боротьби з головнішими хворобами кукурудзи. Тр. Укр. научно-иссл. ин-та зернового хозяйства, вып. 7, № 3, 1936.
11. Руководство по аппробации сельскохозяйственных культур, т. II, 1949.
12. Чернецкая З. С. Болезни кукурузы. Сводный отчет Горской зон. опытной станции, ч. II, 1932.
13. Ячевский А. А. Бактериозы растений. М.— Л., 1935.
14. Ivanov S. S. Stewar'ts wilt disease of corn, with emphasis on the life history of Phytomonas stewarti in relation to pathogenesis. J. Agr. Res., 47, 10, 1933.
15. Smith E. An introduction to bacterial diseases of plants. 1920.

О ПРИГОДНОСТИ ДЛЯ ПРЯМОГО СЧЕТА МЕМБРАННЫХ УЛЬТРАФИЛЬТРОВ, ВЫПУСКАЕМЫХ ДЛЯ САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ВОДЫ*

А. Е. Крисс

Работа Рукиной и Бирюзовой [6] обратила внимание микробиологов на непригодность продажных мембранных ультрафильтров для применения их при так называемом прямом счете микроорганизмов в водоемах вследствие сравнительно высокого содержания в этих фильтрах мертвых бактериальных клеток. Авторы показали, что основным источником загрязнения мембранных ультрафильтров микробными телами является коллоксилин-нитроклетчатка, из которой состоит вещество фильтра, и предложили метод получения мембранных ультрафильтров, практически свободных от клеток микроорганизмов. Этот метод с успехом аппробирован авторами на экспериментальной фабрике, выпускающей мебранные ультрафильтры для санитарно-бактериологического анализа воды.

Однако возникли сомнения [2, 4] по поводу того, велика ли погрешность в результатах определений общего числа микроорганизмов в водоемах при употреблении продажных мембранных ультрафильтров. Как известно, назначение этих фильтров совершенно иное: они служат для количественного учета кишечной палочки в воде, который достигается путем фильтрации через них определенных объемов воды, и затем подсчета колоний после проращивания на среде Эндо осевших на поверхности фильтров клеток кишечной палочки. Естественно, что для этой цели присутствие мертвых бактериальных клеток на поверхности и в толще фильтра никакого значения не имеет.

Рассмотрим подробнее выдвинутые соображения [2, 4] о том, что число микробных клеток, содержащихся в продажных мембранных ультрафильтрах, составляет величину, которая укладывается в допустимую погрешность анализа.

Кузнецов [2] и Разумов [4] указывают, что концентрирование бактерий из воды на поверхности мембранного ультрафильтра до содержания 10—50 бактериальных клеток в маленьком счетном квадратике окулярной сетки позволяет свести ошибку от бактериальной загрязненности продажных ультрафильтров до десятых долей процента.

С этим можно было бы полностью согласиться, если бы такое концентрирование практически оказалось возможным при исследовании воды многих озер, морей и океанов, т. е. в случаях, когда мембранные ультрафильтры находят наибольшее применение для целей прямого счета.

Допустим, что мы задались целью сконцентрировать бактерии на фильтре только до наименьшей плотности, указываемой в инструкции Разумова [3] (до содержания 10 клеток в маленьком квадратике окулярной сетки), из водоемов, где 100 000 бактерий в 1 мл является скорее максимальной цифрой, чем средней. К таким водам относятся родники, ключи, артезианские воды, ряд озер, шельфовые и внутриматериковые морские бассейны, не говоря уже об открытых глубоководных морях и океанах. Посмотрим, какое количество воды из этих водоемов необходи-

* По поводу замечаний С. И. Кузнецова и А. С. Разумова к статье «Метод получения мембранных ультрафильтров для прямого счета, свободных от микробных клеток» Е. А. Рукиной и В. И. Бирюзовой.

мо профильтровать через мембранный ультрафильтр диаметром в 1 см, чтобы добиться самой маленькой плотности, требуемой по инструкции Разумова. Воспользовавшись известной формулой:

$$x = \frac{S \cdot N}{s \cdot v},$$

где x — число бактерии в 1 мл, S — фильтрующая площадь фильтра, s — площадь маленького квадрата окулярной сетки, N — среднее число бактерий в маленьком квадрате окулярной сетки и v — объем профильтрованной воды, находим:

$$\frac{78{,}5 \text{ мм}^2 \times 10 \text{ бактерий}}{0{,}000036 \text{ мм}^2 \times v} = 100000 \text{ бактерий, где } v = 218 \text{ мл.}$$

Такое количество воды — 218 мл — профильтровать через мембранный ультрафильтр диаметром в 1 см невозможно, так как последний забивается уже после фильтрации нескольких десятков миллилитров взвешенными веществами, находящимися в воде, особенно при фильтрации проб воды из поверхностных слоев водоемов.

Это, повидимому, учитывает Разумов, когда в своей инструкции страницей дальше ([3], стр. 56) в табл. 12 приводит ориентировочные объемы воды, которые следует профильтровать при анализе воды различных водоисточников. Согласно указанной таблице, воду ключей, родников и тому подобные воды, бедные бактериями, необходимо фильтровать в количестве 10—20 мл через ультрафильтр диаметром в 1 см. Но даже, если взять максимальный объем из рекомендуемого в таблице, т. е. 20 мл, то, согласно вышеуказанным расчетам, в одном маленьком квадратике окулярной сетки окажется:

$$100\,000 \text{ бактерий} = \frac{78{,}5 \text{ мм}^2 \times N \text{ бактерий}}{0{,}000036 \text{ мм}^2 \times 20 \text{ мл}},$$

где $N = 0{,}9$ бактериальной клетки, а не 10—50 бактериям, как предлагает автор.

Легко видеть, что, фильтруя воду из Клязьминского водохранилища в количестве 15—50 мл через мембранные ультрафильтры диаметром 3 см, Разумов и Захарова [5], если считать, что среднее содержание бактерий в Клязьминском водохранилище составляло 700 000 в 1 мл воды, могли наблюдать в одном маленьком квадратике окулярной сетки

$$700\,000 \text{ бактерий} = \frac{706{,}5 \text{ мм}^2 \times N \text{ бактерий}}{0{,}000036 \text{ мм}^2 \times 15\text{—}50 \text{ мл}},$$

т. е. только 0,5—1,7 бактериальной клетки.

Кузнецов [2], хотя и ссылается на необходимость следовать указаниям инструкции Разумова о том, чтобы в маленьком квадратике окулярной сетки было 10—50 бактерий, также, видимо, не пользовался этими указаниями при бактериологическом анализе воды оз. Байкал. Он фильтровал воду Байкала [1] через ультрафильтры диаметром в 1 см в количестве 10—25 мл. При найденном им содержании бактерий в 40 000—200 000 на 1 мл воды он мог насчитать в маленьком квадратике окулярной сетки только 0,2—0,9 бактериальной клетки

$$\left(40\,000\text{—}200\,000 \text{ бактерий} = \frac{78{,}5 \text{ мм}^2 \times N \text{ бактерий}}{0{,}000036 \text{ мм}^2 \times 10 \text{ мл}}\right) \text{ или}$$

$$0{,}46\text{—}2{,}3 \text{ бактериальной клетки} \left(40\,000\text{—}200\,000 \text{ бактерий} = \frac{78{,}5 \text{ мм}^2 \times N \text{ бактерий}}{0{,}000036 \text{ мм}^2 \times 25 \text{ мл}}\right)$$

По данным Рукиной и Бирюзовой [6], в продажном мембранном ультрафильтре приходится в среднем на один маленький квадратик оку-

лярной сетки 0,2 бактериальной клетки. Авторы правильно отмечают, что исследователи обычно ведут подсчет, вращая микрометрическим винтом, так как счетная сторона мембранного ультрафильтра не поверхность стекла и бактерии располагаются в фильтре ярусно.

Становится очевидным, при сравнении приведенных данных, что превышение действительности из-за пользования продажными мембранными ультрафильтрами лишь по меньшей мере составляет 10% и может достигать 50% и более даже в тех случаях, когда исследуется вода с содержанием бактерий в несколько десятков и сотен тысяч в 1 мл. Эта ошибка очень велика, и нельзя согласиться с Кузнецовым [2], что статья Рукиной и Бирюзовой дезориентирует в действительном положении вещей. Насколько правильно данная статья ориентирует на необходимость пользования для прямого счета мембранными ультрафильтрами, не загрязненными бактериальными телами, можно видеть на примере работы Кузнецова по микробиологии оз. Байкал [1].

Фильтруя воду из различных мест оз. Байкал через продажные мембранные ультрафильтры в количестве 10—25 мл, Кузнецов, если исходить из данных Рукиной и Бирюзовой [6] о средней загрязненности мембранного ультрафильтра в 0,2 бактериальной клетки на один маленький счетный квадратик окулярной сетки, мог насчитать из бактериального загрязнения в самом фильтре:

$$x = \frac{78{,}5\ \text{мм}^2 \times 0{,}2\ \text{бактерий}}{0{,}000036\ \text{мм}^2 \times 10\text{—}25\ \text{мл}} = 44000\text{—}17500\ \text{бактерий на 1 мл воды}$$

Можно ли недооценить значение этих цифр, если из 14 анализов воды, сделанных автором, в 7 пробах определенное им количество бактерий в воде колебалось в пределах 44 000—97 000 на 1 мл!

Достоинством работы Рукиной и Бирюзовой [6] является то, что она не ограничивается указанием на недостатки мембранных ультрафильтров, выпускаемых для количественного учета кишечной палочки, когда их используют для прямого счета, но и предлагает способ преодоления этих недостатков.

Следует присоединиться к пожеланию Разумова [4] о том, чтобы экспериментальная фабрика мембранных ультрафильтров взяла на себя труд изготавливать мембранные ультрафильтры не только для санитарно-бактериологического анализа воды, как это она делает сейчас, но и для прямого счета. Метод, предлагаемый Рукиной и Бирюзовой [6], сравнительно прост и многократно уже применялся при содействии Несвижского, директора экспериментальной фабрики мембранных ультрафильтров, для изготовления фильтров, свободных от микробных клеток.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 14.X.1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кузнецов С. И. Сравнительная характеристика биомассы бактерий и фитопланктона в поверхностном слое воды среднего Байкала. Тр. Байк. лимнолог. станции, **13**, 217, 1951.
2. Кузнецов С. И. Замечания к статье «Метод получения мембранных ультрафильтров для прямого счета, свободных от микробных клеток» Е. А. Рукиной и В. И. Бирюзовой. Микробиология, XXI, 477, 1952.
3. Разумов А. С. Методы микробиологических исследований воды. Изд. Водгео, 1947.
4. Разумов А. С. Замечания к статье «Метод получения мембранных ультрафильтров для прямого счета, свободных от микробных клеток» Е. А. Рукиной и В. И. Бирюзовой. Микробиология, XXI, 478, 1952.
5. Разумов А. С. и Захарова Л. Е. Бактериальный планктон Клязьминского водохранилища. Сб. «Загрязнение и самоочищение водоемов» Ин-та общей и коммун. гигиены. Акад. мед. наук, вып. 1, 100, 1948.
6. Рукина Е. А. и Бирюзова В. И. Метод получения мембранных ультрафильтров для прямого счета, свободных от микробных клеток. Микробиология, XXI, 60, 1952.

ВЫДЕЛЕНИЕ И ПОДБОР АКТИВНЫХ КУЛЬТУР УКСУСНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА СПИРТОВОГО УКСУСА *

И. М. Шаинская

Практическое разрешение вопроса о целесообразности применения чистых культур уксуснокислых бактерий в производстве спиртового уксуса было дано Шапошниковым еще в 1935 г. при пуске нового уксусного завода в Казани [5]. В дальнейшем многие другие советские исследователи применяли выделенные и изученные ими культуры уксуснокислых бактерий для пуска отдельных окислителей и уксусных цехов в других городах Советского Союза: Мантейфель [4], Шаинская [6].

За время Отечественной войны почти все штаммы уксуснокислых бактерий, бывшие в распоряжении ряда научно-исследовательских учреждений, погибли. В связи с этим возник вопрос о выделении новых активных культур. Целью данного сообщения является обмен опытом по выделению таких культур, по экспериментальной проверке их в производственных окислителях и по внедрению их в практику.

Экспериментальная проверка штаммов проводилась в уксусном цехе Мосрыбкомбината при непосредственном участии работников уксусного цеха: С. Я. Чесноковой, Н. Я. Фатьянова, Л. Н. Садовой, Г. И. Рубиной и Л. И. Горловой.

В результате успешно проведенного опыта по замене скорого способа производства уксуса циркуляционным (на обычном оборудовании) уксусный цех Мосрыбкомбината один из первых внедрил у себя новую технологию, использовав для этой цели разработанную инструкцию Украинского научно-исследовательского института пищевой промышленности.

Выделение активных культур уксуснокислых бактерий

Выделение уксуснокислых бактерий производилось из хорошо работающих окислителей, в которых содержание уксусной кислоты было 8,5—11%. Для указанной цели нами отбирались пробы уксуса и стружки из заводских окислителей ряда городов: Москвы, Харькова, Киева, Львова и др.

Для выделения культур уксуснокислых бактерий из уксуса или стружки существует общепринятая методика: посев 1—2 мл уксуса в колбочку, содержащую 100 мл пивного неохмеленного сусла 7—8° Балг. с 4% спирта; стружку же помещают в такую же среду, слегка приподняв ее над уровнем жидкости. По вырастании пленки в первом и втором случае производят высев в чашки Петри с сусло-агаром с добавлением в агар перед розливом 3% этилового спирта.

Однако указанная методика является малопригодной при исследовании высококислотного уксуса (10—12% уксусной кислоты).

Посевы такого уксуса по вышеприведенной методике могут иногда в течение 2—3 месяцев вовсе не давать роста. Отсутствие роста объясняется наличием в посевном материале сравнительно небольшого коли-

* Печатается в порядке обмена опытом по творческому содружеству научных работников с работниками производства.

чества уксуснокислых бактерий, адаптированных к высоким концентрациям уксусной кислоты. Одновременно отмечается чрезвычайно прочное прикрепление бактерий к стружке.

В ряде посевов рост появляется спустя длительный срок. При этом вырастает главным образом плотная слизистая пленка, которая задерживает развитие культур, образующих тонкие пленки, как, например, Bact. curvum и Bact. schützenbachii и их разновидности.

Интересно отметить, что в лабораторных опытах в колбах при постепенном нарастании уксусной кислоты в среде до 9—12%, бактерии, образующие обычно тонкие, хрупкие пленки, начинают агглютинироваться в плотные комья. Дальнейшее нарастание уксусной кислоты в колбах ведет к снижению количества жизнеспособных клеток, что согласуется с данными Иерусалимского [3].

Учитывая вышеуказанные особенности, мы применяли следующую методику для выделения культур уксуснокислых бактерий.

В ряд пробирок (10—15), содержащих по 5 мл пивного сусла 7° Балг. и 4% спирта, засевалось по 1 мл уксуса, т. е. 20% их объема. Посев выдерживался в термостате при 28—30° до появления пленок.

При этом способе посева уксуса нам удавалось получить в некоторых пробирках рост исключительно тонких пленок, в других — слизистых, хрящевидных, что в значительной мере облегчало выявление разных культур в окислителях. В дальнейшем высевом из пленок на твердые среды и многократными рассевами выросших культур с последующим отбором нам удавалось выделить чистые культуры активных уксуснокислых бактерий. Понятно, что в лабораторных условиях одним из решающих факторов для оценки активности культур является их максимальная продукция кислоты, вернее, предел возможного накопления ими уксусной кислоты.

В процессе исследования продукции кислоты культур в колбах нами была отмечена следующая особенность уксуснокислых бактерий: чувствительность к спирту находится у них в прямой зависимости от содержания уксусной кислоты в среде.

Если в исходной среде было 4% спирта, то через 3—4 суток роста в результате окисления его развившейся культурой образуется 3—3,5% уксусной кислоты. Добавление 2% спирта в эти колбы не препятствует нормальному продолжению окислительного процесса, и накопление уксусной кислоты продолжается энергично. Если же в это время добавить сразу 3—4% спирта, окислительный процесс угнетается и накопление уксусной кислоты в течение длительного срока прекращается. Поэтому для бесперебойного процесса накопления уксусной кислоты в колбах мы варьировали добавляемые количества спирта таким образом.

При накоплении в среде до 5% уксусной кислоты — добавляли 2% спирта, при 5—6% уксусной кислоты — 1,5% спирта, при 7%—1% спирта, при 8—9% уксусной кислоты добавляли 0,5% спирта и т. д.

Таким образом, нам удавалось выявить способность максимального накопления уксусной кислоты (до 9,5—11,5%) у испытуемых культур в течение 23—25 дней. Добавление же больших количеств спирта при наличии значительных концентраций уксусной кислоты тормозит окислительный процесс и удлиняет срок достижения его максимума до 60—70 дней и больше.

Подготовка закваски культуры для заводских окислителей производилась следующим образом. Культура выращивалась в бутылочках емкостью в 250 мл, содержащих 100 мл пивного неохмеленного сусла 7—8° Балг. и 4% спирта. Через двое-трое суток при появлении пленки на поверхности жидкости флакончик встряхивался и закваска вносилась в плоскую бутыль (матрац), содержащую 800 мл такого же стерильного сусла с 4% спирта. После равномерного взбалтывания всего сусла последнее стерильно разливалось по 100 мл в матрацы (емкость в 1,5 л), кото-

Таблица 1

Свойства культур

№ культур	Описание колоний	Морфология клеток	Характер пленки на пивном сусле	Характер пленки на вине	Максимальная кислотопродукция в % уксусной кислоты	Рост в пивном сусле со спиртом в %	Перекисленные при наличии в пивном сусле уксусной кислоты в %	Откуда выделено	Вид
2	Колонии плоско-выпуклые с матовой поверхностью, желтоватые, край ровный. Размер до 2 мм	Утолщенные яйцевидные палочки. Размер 0,7—0.8 × 1,0 μ	Беловатая, хрупкая, легко разбивающаяся	Тонкая, хрупкая	9,5	10	8,5	Киевский уксусный завод	Bact. schüzenbachii
11	Колонии плоско-выпуклые с гладкой блестящей поверхностью, желтоватые, край ровный. Размер до 2 мм	Полиморфные палочки 0,8—1×0,5—1,6 μ	То же	Толстая, плотная пленка	8„5	12	8,5	То же	То же
19	Колонии идентичные № 11	Укороченные палочки по двое и одиночные. Размер 0,5—0,8×0,8 μ	То же	Тонкая, хрупкая	8,5	12	8,0	Московск. уксусн. завод	„ „
31	Колонии плоско-выпуклые с гладкой блестящей поверхностью и желтоватым центром. Размер до 2 мм	Тонкие палочки прямые, изогнутые, небольшие цепочки. Размер:0,5—0,8×1,2μ	Тоненькая, голубоватая, очень хрупкая	То же	11—11,5	12	9,0	Львовский уксусный завод	Bact. curvum
54	То же	То же	То же	„	10	12	9,0	То же	То же
10	Колонии выпуклые с гладкой блестящей поверхностью. На 7—8-й день роста со стекловидным прозрачным ободком и мутным центром	Короткие утолщенные палочки. Размер 0,5—0,8×0,4μ	Беловатая, плотная, хрящевидная	Беловатая, плотная, хрящевидная	9,5	12	8,5	„ „	Bact.orleanense
290	Колонии идентичные № 10	То же	То же	То же	9,5	10—11	9,5	Харьковский завод	То же
299	То же	„	„	„	9,0	10	9,0	То же	„ „
39	„	„	„	„	8,5	9	8,5	Московский завод	„ „
84	„	„	„	„	8,5	8—9	8,5	Уксусный цех Мосрыбкомбината	„ „

рые укладывались широкой поверхностью. Через двое-трое суток роста при 28—30° закваска была готова и стерильно сливалась в один сосуд для внесения в окислитель.

Опыт показал, что 3—4 л такой закваски вполне обеспечивают нормальный ход развития уксуснокислых бактерий при пуске окислителя.

Начало окисления спирта обычно наблюдается через двое-трое суток.

Особенности выделенных штаммов уксуснокислых бактерий

Всего нами было выделено 20 штаммов уксуснокислых бактерий. Все эти штаммы по характеру образования пленок можно было разделить на две группы: 1) образующие тонкие, хрупкие, легко разбивающиеся пленки и 2) образующие плотные, толстые, кожистые пленки.

Тех и других было по 10 культур. Проведено детальное изучение выделенных культур.

В табл. 1 приводится описание наиболее активных культур уксуснокислых бактерий.

Из данных приведенной табл. 1 видно, что представленные 10 культур уксуснокислых бактерий являются активными и производственно ценными (устойчивыми к спирту, уксусной кислоте, не перекисляют при 8,5—9% уксусной кислоты, образуют уксус с хорошими вкусовыми качествами). Это относится к культурам обеих групп: как с тонкими хрупкими пленками, так и с толстыми плотными, кожистыми пленками.

Мы подчеркиваем наличие производственно ценных качеств у выделенных нами культур, образующих ксилиноподобные пленки, поскольку такие культуры большей частью отождествляются с Bact. xylinum и микробиологи опасаются применять их для уксусных заводов (Гамова-Каюкова [2]).

Для выяснения этого вопроса нами был пущен полупроизводственный экспериментальный чанок на чистой культуре № 10 (образует ксилоноподобную пленку). Полученный уксус был совершенно прозрачен, крепостью 10—11% уксусной кислоты с хорошими вкусовыми качествами. (Наблюдение велось в течение 9 месяцев.)

Этот опыт и факт наличия культур с ксилиноподобными пленками почти во всех хорошо работающих окислителях убеждает в ошибочности существующего отрицательного мнения о вышеуказанных культурах.

Для проведения дальнейших производственных испытаний мы остановились на более активном штамме № 31 (Bact. curvum). Испытания проводились в уксусном цехе Мосрыбкомбината, где для этой цели было пущено два экспериментальных производственных окислителя.

Испытание культуры № 31 в уксусном цехе Мосрыбкомбината

Опыт № 1. Продезинфицированный производственный окислитель был залит теплым заводским уксусом (30°, 6% уксусной кислоты), вместо пастеризованного, затем была внесена закваска сусловой культуры в количестве 3,5 литра. Уксусное сусло, применявшееся нами, состояло из 6% уксусной кислоты, 2% спирта, питательных солей по рецептуре Анненкова [1] и давалось сразу же после внесения культуры в количестве 75 литров в сутки. В дальнейшем мы варьировали количество уксусной кислоты и спирта в сусле в зависимости от хода окислительного процесса. Также варьировали и литраж его.

Через три месяца работы экспериментального окислителя № 1 сливной уксус содержал 9,75% уксусной кислоты; в состав уксусного сусла входило 6,5% уксусной кислоты, 4% спирта и питательные соли (по ре-

цептуре Анненкова). Работа экспериментального окислителя № 1 представлена в табл. 2.

Таблица 2

Сравнительная работа экспериментальных и производственного окислителя уксусного цеха Мосрыбкомбината

Дата	Окислитель	Кислотность слива в % уксусной к-ты	Сут. производительность в кг ледяной уксусной к-ты	Выход уксусной к-ты в % по затраченному спирту
8/IX 1949 г.	Экспериментальный № 1	9,75	1,95	81
25/X 1949 г.	Экспериментальный № 2	8,3	3,3	80
	Уксусного цеха	8,3	1,6	64

Через пять недель после пуска окислителя был произведен микробиологический анализ уксуса и стружки.

Из окислителя был выделен штамм № 3—2, идентичный по характеру образования пленки культуре № 31. В незначительном количестве наблюдались колонии другого типа, идентичные культуре № 21 (заводской). Таким образом, культура № 31 вполне оправдала себя в производстве уксуса по скорому способу и заняла доминирующее положение в окислителе.

Опыт № 2. Для этого опыта был подготовлен еще один окислитель (№ 2), у которого выгруженную стружку подвергли кипячению в течение одного часа. Чан после тщательной мойки обрабатывали сухим паром в течение 7—8 часов с перерывами.

После утрамбовки стружки, окислитель был залит горячим пастеризованным уксусом, прогретым до 80—90°.

Когда в сливном уксусе содержание уксусной кислоты достигло 6,5%, а в окислителе установилась температура 30°, была внесена сусловая закваска штамма № 31 (четырехдневная) в количестве 3 л.

Уксусное сусло, пущенное сразу же после внесения культуры (из расчета 60 л в сутки), содержало 7% уксусной кислоты и 2% спирта, температура 30°.

В процессе работы мы варьировали содержание уксусной кислоты и спирта в сусле в зависимости от хода окислительного процесса.

К 20-му дню сливной уксус содержал 8,26% уксусной кислоты. По достижении указанной кислотности окислитель был переведен на циркуляционный способ работы, применяемый в современных очень крупных окислителях типа «Фрингс», «Попер» и др. Емкость стружки в них в 30—40 с лишним раз больше обычных, имеющихся на наших уксусных заводах.

В указанных окислителях применяются специальные насосы для перекачки и подачи уксусного сусла и вентиляторы для аэрации окислителя. Температура в окислителях регулируется подогреванием сусла.

В данном эксперименте, наряду с испытанием культуры № 31, мы должны были решить вопрос о целесообразности и рентабельности применения циркуляционного способа в обычных окислителях. Разрешение этого вопроса упиралось в целый ряд других: в количество почасовой нагрузки подаваемого сусла, в регулирование температуры его, в длительность циклов и т. п.

На каждый цикл (5—6 дней) нами изготовлялось 200 л сусла, состоящего из 10% спирта, 0,5% уксусной кислоты и питательных солей по рецептуре Анненкова.

В нашем опыте регулирование температуры достигалось подачей разных количеств сусла (от 40 до 60 л в час). Дополнительную аэра-

цию, применяемую в больших окислителях, осуществляли иногда подачей воздуха при помощи компрессора. Уксус-полуфабрикат из «магазина» доставлялся в заторный чан вручную.

Но и при всех этих исканиях, при наличии ряда неполадок чисто технического характера, применение циркуляционного способа в обычном окислителе вполне себя оправдало, как это видно из табл. 2.[1]

Нами был произведен микробиологический анализ уксуса и стружки экспериментального окислителя. В результате произведенного анализа были получены две культуры: одна, идентичная исходной, а другая, образующая плотную, толстую кожистую пленку типа Bact. xylinum, резко отличную от исходной культуры № 31.

По своим биохимическим свойствам и активности кислотопродукции этот штамм был идентичен исходной культуре.

Очевидно, мы получили вариант культуры № 31. Мы идентифицировали его как разновидность Bact. curvum. Интересно отметить, что ни на стружках, ни в уксусе никакой слизи не наблюдалось.

Приведенные данные для экспериментального окислителя № 2 представляют средние показатели трех циклов.

Как видно из табл. 2, штамм № 31 (Bact. curvum) оправдал себя в двух опытах.

Применение циркуляционного способа в опыте № 2 увеличивает суточную производительность одного окислителя до 200%.

Летом 1950 г. на жидкой сусловой закваске в количестве 3 литров (штамма № 31) был пущен окислитель нового уксусного цеха в г. Гусь-Хрустальном. Окисление стружки было произведено пищевой уксусной эссенцией, разведенной до 9—10% уксусной кислоты.

Получение уксуса производилось (и производится в настоящее время) по циркуляционному способу. Средняя кислотность уксуса достигала вначале 8,5% и выше. Средняя суточная производительность 2,5—3 кг ледяной уксусной кислоты с 1 м³ стружки.

Выводы

1. Описывается способ выделения активных культур уксуснокислых бактерий.

2. Из лучших окислителей разных уксусных заводов СССР выделено 20 культур уксуснокислых бактерий, из которых 10 культур образуют плотные, толстые, кожистые пленки, остальные — тонкие, хрупкие пленки.

И те и другие культуры являются активными кислотопродуцентами и обладают рядом ценных свойств, необходимых для культур производства спиртового уксуса.

3. Выделенная нами культура № 31 (Bact. curvum) оправдала себя в двух экспериментах в уксусном цехе (Мосрыбкомбинат), а также при пуске нового уксусного цеха в г. Гусь-Хрустальном.

Всесоюзный
научно-исследовательский институт
консервной промышленности
Москва

Получено 21.II.1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анненков М. Г. Применение чистых культур и изучение условий дополнительного питания в уксусном производстве Консультации брод. промышленности, вып. 9, стр. 24, 1939.

[1] Как выяснилось на конференции, состоявшейся в декабре 1949 г. в Украинском ин-те пищевой промышленности, сотрудниками этого института Анненковым, Жуковым и другими также разрабатывался вопрос о применении циркуляционного способа на обычном заводском оборудовании. К этому времени по циркуляционному способу работали не только экспериментальные окислители, но и 20 окислителей Харьковского уксусного завода.

2. Гамова-Каюкова Н. И. Подбор уксуснокислых бактерий для получения уксуса по скорому способу. Микробиология, XIX, вып. 2, 1950.
3. Иерусалимский Н. Д. Связь между кислотообразованием и развитием уксусных бактерий. Микробиология, VIII, вып. 2, с. 160, 1939.
4. Мантейфель А. Я., Зыкова К. Н. и Дульман Т. М. Микробиологическое обследование образователей Московского уксусного завода им. X лет Октября. Микробиология, VII, вып. 3, 1939.
5. Шапошников В. Н., Дульман Т. М. и Бехтерева М. Н. Пуск уксусного завода в Казани на культуре Bact. curvum. Сб. научно-иссл. работ сектора орган. кислот, 1940.
6. Шаинская И. М. К вопросу микробиологии уксусного производства. ВУАН, т. 1, с. 181, 1934.

О СОДРУЖЕСТВЕ НАУКИ И ПРОИЗВОДСТВА*

В. Ш. Мирзоева и Е. В. Тюнина

Наука в отрыве от углубленного изучения производственных процессов не в состоянии помочь в разрешении производственных проблем. Следовательно, такая наука не может оказать реальную помощь производству в усовершенствовании технологических процессов, в повышении производительности труда.

Для успешного разрешения ряда важных вопросов производства большое значение имеет творческое содружество научных работников с работниками производства.

В нашей статье мы хотим поделиться нашим опытом по проведению содружественной комплексной работы, выполненной для выяснения причин производственных потерь желатины.

Разрешение этого вопроса было поручено бригаде, состоящей из химиков, микробиологов и технологов Всесоюзного научно-исследовательского института мясной промышленности (ВНИИМП) и Московского желатинового завода.

Постановка темы была вызвана тем обстоятельством, что на желатиновых заводах, при одном и том же оборудовании, в теплое время года выход желатины значительно ниже, чем в холодное время. К сожалению, на желатиновых заводах и, в частности, на Московском, производственные помещения имеют разную температуру в зимнее и летнее время.

Содержание коллагена в кости-решетке составляет в среднем 23,07%. Согласно действующей инструкции, выход сухой желатины из кости-решетки должен составлять 14%. Таким образом, в процессе производства теряется около 40% коллагена, содержащегося в кости-решетке.

До проведения этой работы производственникам не было известно, что является причиной «немеханических» потерь, какова величина их, микробиологическое ли это воздействие на коллаген при повышенной летней температуре или химическое взаимодействие коллагена с кислотой и щелочью.

Опыты проводились в условиях, исключающих механические потери.

Обследованию подверглись два основных процесса производства — обработка кости в кислой среде для освобождения ее от минеральных веществ (мацерация) и обработка ее известковым молоком (золка) для удаления балластных белков, понижающих качество желатины, для омыления имеющихся в кости жиров и для изменения тонкой структуры коллагена, что способствует более полной вываркe желатины.

Согласно разработанному плану, опыты проводились в лабораторных и производственных условиях.

Для выяснения участия микроорганизмов в потерях коллагена было предусмотрено:

1) бактериологический контроль всех опытов, поставленных Клее-желатиновой лабораторией;

2) обследование микрофлоры сырья, воздуха, мацерационных и зольных чанов на производстве;

3) лабораторные опыты по влиянию микрофлоры на коллаген в процессах мацерации и золки.

---

* Печатается в порядке обмена опытом по творческому содружеству научных работников с работниками производства.

Проведенная работа позволяет утверждать, что не жизнедеятельность микрофлоры, а химическое воздействие на коллаген соляной кислоты и щелочи является причиной «немеханических» потерь в производстве желатины в теплое время года. Высокая кислотность мацерационной жидкости (pH меньше единицы) и высокая щелочность зольной жидкости (pH =12—12,5) препятствуют ферментативной деятельности микробов даже при повышенной температуре. При искусственном заражении сырья сильными штаммами протеолитических микробов, выделенными из производственных чанов, было установлено, что при условии соблюдения указанных значений реакции среды и правильного технологического режима микрофлора непричастна к потерям коллагена в этих процессах. Напротив, при нарушении этого режима потери коллагена от микробиологических причин могут достигнуть значительной величины.

Данная работа была выполнена совместно научными работниками Всесоюзного научно-исследовательного института мясной промышленности (ВНИИМП) и работниками Московского желатинового завода.

В ней принимали участие: от Всесоюзного научно-исследовательского института мясной промышленности Р. Городецкая, М. Шеремет, М. Шахназарова, А. Казаков, В. Мирзоева, Е. Михайлова.

От Московского желатинового завода — Д. Вирник, В. Смирнова, Е. Тюнина, З. Бондарева, Р. Есакова. Тема велась под общим руководством ст. научного сотрудника ВНИИМП Р. Городецкой.

Таким образом, совместная работа научных сотрудников с работниками производства дала возможность научно разобраться в причинах потерь желатины, разработать мероприятия по уменьшению химических потерь сырья на производстве и тем самым найти пути к значительной экономии вещества, дающего клей.

Подробные сведения о проведенной работе будут опубликованы в статье «Скрытые резервы в желатиновом производстве» в журнале «Мясная индустрия», № 6 за 1952 г.

Всесоюзный научно-исследовательский
институт мясной промышленности
Москва

Получено 19.IX.1952 г.

О ПРИРОДЕ ВИРУСОВ И ИХ ПРОИСХОЖДЕНИИ*

Л. А. Зильбер

Быстро движется вперед советская биология, вооруженная всепроникающим методом диалектического материализма и учением И. В. Мичурина и И. П. Павлова. Накапливаются новые факты, освещающие вопросы, долго остававшиеся нерешенными, и создаются теории по основным проблемам современной биологии — о происхождении жизни, о происхождении клеток из живого вещества.

На фоне общего подъема советской науки и, в частности, биологии возрождается интерес ко многим старым вопросам биологии и медицины, для решения которых эти теории создали новые основы.

К числу этих вопросов принадлежит и старый вопрос о природе и происхождении вирусов.

В первые же годы после открытия вирусов возник спор об их природе. Д. И. Ивановский [6] считал, что контагий мозаичной болезни, фильтруемость которого через фарфоровые свечи была им впервые доказана, представляет собой мельчайший микроорганизм. Бейеринк (Bejerinck [23]) высказал другую точку зрения. Он считал, что этот контагий является растворенным жидким веществом (contagium fluidum vivum), и доказывал это опытами, в которых он наблюдал диффузию вируса мозаики табака в агар. Результаты этих опытов были опровергнуты очень точными экспериментами Ивановского, показавшего, что вирус мозаики проникает только в постоявший и уже имевший мельчайшие трещинки агар, в который проникают не только растворы химических веществ, но и взвесь туши.

По Вудсу (Woods [47]), причина мозаичной болезни табака исключительно эндогенная и не связана ни с какой проникающей извне инфекцией. Она заключается в нарушении ферментного равновесия в тканях — в перепроизводстве оксидаз и пероксидаз. Вудс отрицает какую-либо роль живых организмов в возникновении мозаики табака.

Эти основные точки зрения на природу вирусов, согласно одной из которых вирусные болезни вызываются микроорганизмами, согласно другой — химическими веществами, возникающими в организме в результате нарушения обмена, продолжали существовать в течение всей истории вирусологии, привлекая к себе то меньшее, то большее внимание. Спор о природе вирусов представляет большой интерес не только для многих существенных вопросов современной биологии, но и для обширных областей практики и прежде всего для борьбы с вирусными болезнями человека, животных и растений. Легко понять, что мероприятия по борьбе с болезнями должны быть совершенно иными, если эти болезни являются инфекционными или если они являются результатом попадания в организм или образования в нем каких-то химических веществ. Важность этого вопроса и побуждает подробно разобрать имеющиеся для его обсуждения материалы.

В настоящее время никто уже не оспаривает представления о живой природе большинства вирусов, поражающих человека и животных. Изучение их химического состава, оказавшегося весьма близким к химиче-

* Печатается в связи с дискуссией, проводимой журналом «Микробиология» по проблеме неклеточных форм у микроорганизмов.

скому составу бактерий, обнаружение у более крупных из них ферментных систем и оболочки (вирус оспы), а также фигур деления не оставляют сомнения в том, что эти вирусы являются живыми микроорганизмами.

Иначе обстоит дело с некоторыми вирусами, поражающими растения и бактерий. Многие исследователи утверждают, что они представляют собой особые химические вещества, репродуцирующиеся в организме.

Исследования последних 17 лет показали, что некоторые растительные вирусы могут быть получены в кристаллической форме в качестве высокомолекулярных нуклеопротеидов, гомогенных как в физическом и химическом, так и в серологическом отношениях.

Получение вирусов в кристаллическом виде дало, казалось, весьма убедительное доказательство их химической природы, так как представлялось маловероятным существование живых существ, могущих принимать кристаллическую форму и состоящих только из одного типа белковых веществ без примеси углеводов и липоидов.

В связи с этими данными в литературе утвердилось положение, что вирусы являются смешанной группой, в которую входят наряду с микроорганизмами, к числу которых относятся наиболее крупные вирусы животных (например, вирус оспы), также и вирусные нуклеопротеиды, которые являются химическими веществами.

Так как одним из основных свойств вирусов является их размножение в поражаемом ими организме, вполне понятно, что сторонники химической природы вирусов прежде всего пытались объяснить это размножение как процесс репродукции химических частиц.

Зарубежные авторы Стэнли (Stanley [43]) и Нортроп (Northrop [39]) высказали гипотезу, согласно которой размножение вирусов представляет собой автокаталитический процесс.

Пищеварительные ферменты — трипсин и пепсин — находятся в панкреатической железе и слизистой желудка в виде инактивных продуктов трипсиногена и пепсиногена, которые превращаются в активные ферменты действием ничтожных количеств трипсина и пепсина. Подобным же образом, по мнению Стэнли и Нортропа, совершается и размножение вирусов. Незначительное количество трипсина превращает большую массу трипсиногена в подобное себе вещество, таким же образом и вирус катализирует образование новых количеств вируса из предсуществующих в клетке белковых веществ. Эта точка зрения встречает многочисленные возражения, которые исключают возможность достоверности подобного рода объяснения.

Как известно, один и тот же организм может быть поражен различными вирусами, весьма значительно отличающимися друг от друга. Невозможно предположить, чтобы каждый из них имел соответствующего неактивного предшественника в клетках организма. С другой стороны, один и тот же вирус может размножаться во многих далеко отстоящих друг от друга организмах. Приходится принять, что эти различные организмы имеют одинаковых предшественников вируса, что мало вероятно. Трудно допустить также наличие подобных «предшественников вирусов» еще потому, что они давно исчезли бы в результате эволюционного процесса, если бы они не несли какой-либо другой функции в организме.

Сухов [15, 16] пытался защищать представление о роли катализа в размножении вирусов. Он полагал, что если предшественниками вирусов считать более низкомолекулярные продукты белкового синтеза, не имеющие антигенных свойств, то вышеизложенные возражения теряют свое значение. Вполне естественно, что Сухов наделяет вирус и свойствами фермента, способного осуществлять в какой-то мере белковый синтез. Эти поправки мало помогают гипотезе Стэнли и Нортропа. Низкомолекулярные продукты тоже должны обладать какой-то специфич-

ностью; если это было бы не так, то в любом растении размножался бы любой вирус, так как эти продукты могли бы быть для него «предшественниками».

Несоответствие размножения вируса процессу активирования протеолитических ферментов ясно также из нижеследующего. При прибавлении пепсина свиньи к пепсиногену курицы образуется куриный, а не свиной пепсин. Специфичность конечного продукта в этой реакции определяется, следовательно, не активатором, а «предшественником». Если допустить подобный процесс при репродукции вируса, то нужно ожидать, что определенный вирус, попавший при заражении в клетку, вызывает активирование различных предшествующих «предшественников» и благодаря этому возникает смесь вирусов или по меньшей мере смесь вариантов вируса, что, однако, не имеет места, ибо один и тот же штамм можно поддерживать пассажами неограниченно долгое время.

Наконец, теория автокатализа не объясняет отсутствия размножения родственного вируса в уже пораженном вирусной инфекцией растении. Как известно, подобная суперинфекция не происходит даже в том случае, если первоначальная инфекция была произведена незначительной дозой вируса. Если вирус активирует имеющихся в клетке «предшественников», то почему же этот процесс не происходит при суперинфекции даже родственным вирусом? Все эти соображения не позволяют объяснить размножение вирусов автокаталитическим процессом.

Недавние наблюдения Рыжкова [12] показали, что размножение вируса табачной мозаики в значительной степени зависит от аминокислотного состава среды и что аналоги естественных аминокислот подавляют его размножение. Применение изотопного метода также показало с большой вероятностью, что вирус табачной мозаики строится из аминокислот (Менегини и Дельвич, Meneghini a. Delwiche [36]). Таким образом, вирус при размножении использует аминокислоты для построения своих белков подобно патогенным бактериям. Эти данные коренным образом противоречат представлению о размножении вируса аутокаталитическим процессом.

Сухов [17, 18, 19], в последнее время уже не поддерживает теории катализа и склоняется к мысли, что вирусы являются живыми организмами, в том числе и вирусы, полученные в виде кристаллических белков. Странным образом он полагает, однако, что вирусы являются живыми телами только в период их активного воспроизведения, будучи же высушенными, они являются безжизненным веществом. «Переход вируса из недеятельного состояния к физиологической активности, что происходит при заражении растения, представляет собою момент превращения безжизненного вещества в живое вещество». Аналогичная точка зрения несколько раньше была высказана Боудэном (Bawden [20]). Он пишет о вирусах нижеследующее: «вне живых клеток они представляют собою просто вещества, способные превращаться в функционирующие системы только после возвращения в это местообитание». Сухов и Боудэн забывают, однако, что многие бактерии и особенно их споры сохраняют жизнеспособность в высушенном состоянии в течение многих месяцев и лет, причем и у них в высушенном состоянии «отсутствуют условия для физиологического обмена веществ». Можно ли на основании этого полагать, что бактерии в высушенном состоянии являются безжизненным веществом?

Своеобразным видоизменением аутокаталитической теории являются взгляды Мориама и Охаси (Moriayma a. Ohashi [37]). Они полагают, что вирус является ферментом, который катализирует химическую реакцию белков клетки, благодаря которой он репродуцируется. Однако белки клетки являются материалом для подобного превращения только после того, как вирус вызывает определенную степень их денатурации, приводящую к формированию мельчайших телец, которые авторы иден-

тифицируют с элементарными тельцами. Хотя это представление, не имеющее за собой никаких экспериментальных данных, прилагается авторами для объяснения размножения только некоторых вирусов, оно не может быть принято. Остается неясным, какие элементы клетки превращаются в вирусные, почему из белков клетки всегда возникает один и тот же вирус, специфический по своей патогенности, морфологическим, серологическим и химическим свойствам. Остается неясной и причина, по которой вирус вызывает подобные реакции в разных растениях. Все эти вопросы остаются совершенно открытыми.

Кольцов [7] уподоблял вирусы внутриклеточным мицеллярным образованиям, способным, по его мнению, ассимилировать и размножаться, не обладая обменом веществ. В качестве примера подобной мицеллы он приводит целлюлозу. В состав каждой мицеллы целлюлозы входят 30—60 органических цепных молекул. Эта молекула растет, присоединяя из окружающей среды свободные молекулы подобно кристаллу. Предел роста определяется, повидимому, температурой: чем выше температура, тем мельче мицеллы. Если мицелла с 60 молекулами будет перенесена в более высокую температуру, она, вероятно, разделится на две.

Разумеется, в живой клетке имеется много разнообразных химических соединений, увеличивающихся в количестве на определенных этапах обмена в некоторых случаях, возможно, тем путем, который указывает Кольцов. Но громадная разница между этими соединениями и вирусами заключается в том, что вирусы, будучи выделены из организма, сохраняют свою способность к размножению, а все выделенные из клетки химические продукты эту способность теряют и не восстанавливают ее при обратном помещении в клетку.

Нейгебауэр (Neugebauer [38]) также пытался объяснить размножение вирусов физико-химическими процессами. Он полагал, что молекула вирусного белка может переходить из круглой формы в плоскую расширенную и обратно. При размножении вирусы принимают расширенную форму, благодаря чему создаются условия для уподобления молекулярных цепей белков клетки белкам вируса. Если полипептидные цепи белков протоплазмы клеток находятся вблизи цепей молекулы вируса, то должны возникнуть силы притяжения, так как специфические протеины вируса родственны протеинам клетки. Освобождающаяся при притяжении многих атомных пар энергия достаточна, чтобы освободить некоторые химические соединения белков хозяина, которыми он отличается от вирусного белка, и превратить их в вирусные протеины.

Не говоря уже о крайней умозрительности подобного представления, в котором ни одно звено не основано на экспериментальных доказательствах, необходимо указать, что основная предпосылка Нейгебауэра о родственности белков вируса и клетки, в которой он размножается, является ложной. При помощи ультрацентрифугирования из различных здоровых тканей животного и растительного организма были выделены высокомолекулярные вещества. Но сходство их с белком вирусов ограничивается тем, что они являются гомогенными веществами с молекулярным весом, близким к молекулярному весу вирусов. По антигенным же свойствам и по инфекциозности эти вещества ничего общего с вирусами не имеют. Свойства этих «тяжелых белков», как некоторые их называют, извлеченных из растительных клеток, отличаются от растительных вирусов и в других отношениях. Так, например, была отмечена меньшая устойчивость этих веществ к высаливанию, замораживанию, повторному центрифугированию и т. п. (Боудэн и Пайри, Bawden a. Pirie [22] и др.). Необходимо указать, что и другая предпосылка Нейгебауэра также является произвольной. Нет оснований предполагать, что шаровидная форма вирусов переходит в плоскую расширенную при их размножении. Электронная оптика не обнаруживала подобных форм при исследовании вирусов в разнообразных стадиях их развития.

Все вышеизложенное показывает, что представления о химической природе вирусов, высказанные впервые зарубежными исследователями, не могут рационально объяснить основное свойство вирусов — их способность размножаться в пораженном организме.

Одним из наиболее существенных аргументов сторонников химической природы вирусов является считавшееся долгое время доказанным отсутствие у вирусов обмена веществ. Это положение подвергается сейчас весьма серьезной ревизии.

В лаборатории Рыжкова [14] получен ряд фактов, свидетельствующих о том, что вирус табачной мозаики до некоторой степени самостоятелен в своем обмене и продолжает накапливаться в растении и тогда, когда синтез нормальных белков прекращается. Этот процесс, например, имеет место в условиях азотистого или фосфорного голодания растений, когда количество белка в здоровом растении заметно уменьшается. У больного растения это снижение незначительно и титр вируса увеличивается и тогда, когда нормальные белки растений значительно уменьшаются в количестве.

Весьма существенны материалы, свидетельствующие о наличии обмена у вируса бактерий, бактериофага, химическая природа которого защищалась долгое время большинством исследователей.

Коэн (Cohen [25]) изучал соотношение рибонуклеиновой и дезоксирибонуклеиновой кислот в культурах кишечной палочки, содержащей и не содержащей бактериофага. Препараты бактериофага T_2 и T_4, взятые в опыт, содержали 10% дезоксирибонуклеиновой кислоты.

В культуре без фага размножение бактерий идет параллельно синтезу рибонуклеиновой и дезоксирибонуклеиновой кислот и их содержание равно примерно 1 : 3. В культуре же, содержащей фаг, количество рибонуклеиновой кислоты остается постоянным, в то время как количество дезоксирибонуклеиновой вырастает в несколько раз, и содержание фосфора увеличивается пропорционально ее накоплению. Для выяснения источника этого фосфора были поставлены опыты с радиоактивными препаратами. Оказалось, что этим источником является неорганический фосфор среды, из которого и синтезируется дезоксирибонуклеиновая кислота, вероятно при помощи энзимов бактерийной клетки.

Эти данные получают подтверждение и в работах Путнама и Козлова (Putnam a. Kosloff [41]), в их опытах с использованием радиоактивного фосфора, до 70% фосфора, из которого синтезировалась дезоксирибонуклеиновая кислота фага кишечной палочки, поступало из синтетической среды, где выращивались бактерии, и лишь 30%, повидимому, из самих бактериальных клеток; количество дезоксирибонуклеиновой кислоты этих последних уменьшалось почти на $^2/_3$ первоначального количества.

В дальнейшем были получены некоторые материалы о механизме белкового обмена у фага. Соответствующие опыты Эванс (Evans [29]) были поставлены с бактериофагом к кишечной палочке, полученном при культивировании этого микроба на синтетической среде, содержащей молочнокислый аммоний. Фаг подвергался очистке центрифугированием и конечный продукт был гомогенен и однороден.

В среду, на которой выращивались бактерии, вводились изотопы фосфора, азота или углерода, и эти элементы можно было обнаружить у бактерий, выращиваемых на этой среде. При прибавлении фага к бактериальной культуре можно было наблюдать переход изотопа из бактерий в корпускулы фага. Присутствие изотопов в вирусной частице можно было наблюдать и при выращивании бактерий, не содержащих изотопов, в среде, содержащей изотопы, при добавлении к ней фага.

Этот метод позволил определить, что азот фага происходит из аммония среды и изотоп присутствует в белковой и нуклеиновой фракции фага. Следовательно, большие количества белка и нуклеиновой кислоты

синтезируются фагом из простых компонентов среды. Вместе с этим было установлено, что дезоксирибонуклеиновая кислота в значительном количестве переходит в размножающиеся корпускулы фага, причем ее содержание у потомства фага в два-три раза выше, чем у исходной частицы. Эти данные показывают, что дезоксирибонуклеиновая кислота синтезируется в процессе репродукции фага. Но значительное количество этой кислоты переходит из бактериальной клетки в вирусную частицу.

Ряд опытов был поставлен с бактериями, у которых пурины нуклеиновой кислоты — аденин, гуанин и пиримидин-тионин — содержали радиоактивный углерод благодаря выращиванию их на среде с радиоактивным бикарбонатом натрия. Подобные бактерии инфицировались фагом, и затем фаг изолировался. При соответствующем исследовании было обнаружено, что аденин и гуанин нуклеиновой кислоты фага высокорадиоактивны и что изотоп углерода содержится только в этих двух компонентах. Таким образом, значительная часть аденина и гуанина нуклеиновой кислоты бактерий переходит в потомство фага вместе с тем большим их количеством, которое синтезируется бактерией из питательной среды.

Последующие опыты показали, что рибонуклеиновая кислота фага отличается по строению от рибонуклеиновой кислоты бактерий и что, следовательно, вирус не использует эту кислоту в интактном виде. Вместе с этим было показано, что количество бактериального азота, переходящего в вирусный протеин, очень мало. Повидимому, вирусный белок синтезируется не из бактериального белка, а из аминокислот и пептидов.

Все эти данные свидетельствуют о том, что фаг обладает своим обменом веществ, позволяющим ему, как и любому другому живому существу, строить свое тело из элементов окружающей среды. Этот обмен связан с обменом клетки, которая является для вируса внешней средой, но вирус обладает своим обменом веществ, отличным от обмена веществ клетки, в которой он размножается.

Представления о простоте химического строения кристаллических вирусов не получили подтверждения. Согласно первоначальным данным Стэнли [43, 44], вирус табачной мозаики не содержит фосфора и углеводов и представляет собой глобулин. Эти данные, однако, не подтвердились. Вирус мозаики табака оказался нуклеопротеидом, содержащим фосфор и углеводы в виде нуклеиновой кислоты. В большинстве исследованных препаратов очищенных растительных вирусов, в том числе и полученных в кристаллическом виде, количество азота оказалось равным 14,6—17,0%, углерода 45—53%, водорода 6,5—7,5%, углеводов 2,3—18%, серы 0,2—1,3%, фосфора 0,4—4,1% (Боудэн, [20]). Количество золы, остающейся после сжигания вирусных препаратов, довольно значительно — от 1,5 до 7,0%. При исследовании золы вируса кустистой карликовости помидоров был обнаружен кальций, натрий и следы 12 различных металлов (Pirie [40]). Все это говорит о том, что растительные вирусы являются довольно сложными по своему составу и содержат вещества, обычно встречающиеся в живых организмах.

Сторонники химической природы вирусов пытались опереться на данные, полученные при морфологическом изучении вирусов. Но эта попытка имела мало успеха.

Изучение вируса табачной мозаики в электронном микроскопе показало, что он представляет собой палочки, длина которых равна 280 мμ, а поперечник — 15 мμ.

Однако палочки эти имеют отнюдь не одинаковую величину. Наиболее часто, в 65—70%, наблюдается палочка величиной около 280—320 мμ, но в каждом препарате можно наблюдать и палочки меньшей величины — от 40 до 280 мμ.

Стереоскопические наблюдения доказывают, что изображение палочек меньшей величины не обусловлено их косым расположением в

плоскости препарата и что они действительно существуют в препаратах вируса табачной мозаики.

При воздействии ультразвука более длинные палочки распадаются на более мелкие. В препаратах, содержащих до воздействия палочки величиной в 320 мμ, превалируют после озвучания палочки величиной в 80 мμ, а затем и в 40 мμ. К сожалению, нет точных данных о связи этого процесса с инактивацией вируса.

Весьма интересным оказалось то обстоятельство, что в растворах вируса мозаики, подвергнутых действию ультразвука, распавшиеся палочки вновь через некоторое время восстанавливают свою величину (Кауше, Kausche [32]). Нужно отметить, что воздействие ультразвука и на клетки до известной степени обратимо и клетки восстанавливают свою жизнеспособность иногда после интенсивного воздействия.

Несомненная вариабильность в величине палочек вируса мозаики табака мало согласуется с представлением о том, что они являются макромолекулами. В последнем случае можно было бы скорее ожидать более однородных размеров в отношении, кратном к величине каждой из однородных молекул, из которых состоит макромолекула. Если бы палочки, видимые в электронном микроскопе, представляли собой изолированные молекулы вируса, то, распадаясь под влиянием ультразвука, они вряд ли сохраняли бы именно палочковидную форму и вряд ли в этом случае они восстанавливали бы свою первоначальную форму после того, как прекратилось воздействие ультразвука. Нужно признать, что все эти данные мало согласуются с тем, что палочки представляют собой изолированные молекулы химического вещества.

Электронная оптика позволила подвергнуть первоначальному изучению и вопрос о том, каким путем размножаются палочки вируса мозаики. Стэнли и Андерсон (Stanley a. Anderson [45]) изучали, идет ли увеличение количества палочек путем роста в длину и поперечного деления, или путем роста в ширину и деления по длиннику, или каким-либо иным путем. Они пришли к заключению, что наиболее вероятным является увеличение роста палочек в длину с последовательным поперечным сечением. Это заключение, особенно в устах противников живой природы вируса мозаики табака, представляется весьма важным. Живой организм происходит от подобных себе организмов. Химические вещества, наоборот, синтезируются из несходных с собой элементов. Если палочки мозаичного вируса происходят из подобных же палочек, а не возникают из других элементов,— это существенное доказательство их живой природы.

В недавнее время были представлены и другие данные, свидетельствующие о размножении растительных вирусов путем деления. Стир и Робли (Steer a. Robley [46]) при изучении вируса кустистой карликовости томатов в электронном микроскопе наблюдали, наряду с типичными сферическими частицами, также более широкие частицы, представляющие разные стадии деления вплоть до двойных форм, только что разделившихся и находящихся в непосредственной близости друг к другу.

В последнее время Боудэн [20] выдвинул гипотезу о том, что палочки вируса табачной мозаики возникают из среды, а не размножаются делением. «Возможно,— пишет он,— что одна частица заставляет клетку образовывать одновременно несколько частиц, каждая из которых сходна с изначальной, но непосредственно не получает от нее ни малейшей части своего вещества». Сходная гипотеза защищается и Суховым [17, 18, 19]. В этой гипотезе, в сущности говоря, нет ничего нового. Бордэ еще в двадцатых годах защищал подобные воззрения применительно к размножению бактериофага. Сухов [17] приводит данные Герчика (1950), описавшего ряд морфологических картин, наблюдавшихся им в электронном микроскопе при действии фага на бактерий. Эти картины якобы воспроизводят процесс образования фага из вещества бактерий. Однако

ознакомление с электронограммами Герчика не позволяет сделать подобное заключение. Картины, им опубликованные, допускают разное толкование, и некоторые из наблюдавшихся им образований скорее всего представляют собой вещество распадающихся под влиянием фага бактерий, а не стадии формирования фага. Сведение этих картин в схему постепенного образования бактериофага из шарообразного комочка вещества в хвостатую форму в значительной части произвольно. Остается также неясным, как Сухов, в последнее время согласившийся с тем, что вирусы являются организмами, может представить себе возникновение организмов непосредственно из окружающей их среды.

Необходимо сказать несколько слов о теории эндогенного образования вирусов, до сих пор имеющей многих приверженцев среди зарубежных ученых. Дорр (Doerr [28]), Левадити (Levaditi [34]) и другие мотивировали эту точку зрения некоторыми наблюдениями. Левадити полагает, что элементарные тельца оспенной вакцины происходят из нуклеопротеинов клетки живого организма. Когда вирус прививают в чувствительные ткани, он нарушает синтез клеточных нуклеопротеинов, и этот процесс приводит к возникновению специфических вирусных единиц. Вначале образуются «нормальные» частицы, которые затем приобретают антигенные свойства, но не являются инфекционными. Это — «провакцина». В последующем они становятся инфекционными, «вакциногенными», превращаясь в элементарные тельца. Основой для такого рода предположения являются наблюдения над инфекциозностью элементарных телец, развивающихся в коже кролика в различное время после прививки оспенной вакцины. Через 24 часа после прививки в коже обнаруживается значительно больше элементарных телец, чем через 48 и 72 часа, но прививаемость («вакциногенная» способность) ткани, содержащей эти тельца и взятой через 24 часа после прививки, значительно меньшая, чем в более поздние сроки. Представляется очевидным, что различная инфекциозность культур элементарных телец различного возраста вовсе не является доказательством их происхождения из нормальных компонентов клетки и гипотеза Левадити не имеет сколько-нибудь серьезного обоснования.

Совсем недавно Ремлянже и Байли (Remlinger et Bailly [42]) высказали предположение, что вирус бешенства может возникнуть в животном организме путем самопроизвольного зарождения. Авторы предполагают, что нарушения клеточного обмена могут привести к образованию нуклеопротеиновых молекул с вирулентной боковой цепью, которая, попав в центральную нервную систему, может вызвать ее поражение. Основанием для такого предположения являются случаи заболевания бешенством, при которых нельзя было установить контакта с больными бешенством животными.

Приведенных примеров достаточно, чтобы видеть, что гипотеза о спонтанном зарождении вирусов представляет собой чисто умозрительное представление, не подтвержденное какими-либо точно проведенными экспериментами.

Сухов [17, 18, 19], который с большим сочувствием высказывается об этой гипотезе, пишет о том, что эта проблема должна быть сохранена, пока практика и научный эксперимент ее не снимут. Но ведь до сих пор сторонники этой гипотезы не представили ни одного подтверждающего ее научного эксперимента. Что же касается практики, то практика борьбы с вирусными болезнями целиком противоречит этой гипотезе. В самом деле, ведь практика борьбы с вирусными болезнями целиком построена на представлении о том, что вирусы попадают в организм извне, а не зарождаются в нем. Если бы существующие в наше время и известные нам вирусы самозарождались в организме в результате неизвестных причин, борьба с вирусными заболеваниями не могла бы быть успешной.

Все вышеизложенное приводит к давно защищаемой многими отечественными исследователями (Ивановский [6]; Гамалея [2]; Зильбер [3]), теории о живой природе вирусов, теории, согласно которой вирусы представляют собой особую группу живых организмов. Эту теорию разделяет сейчас большинство советских исследователей. К ней присоединился недавно Рыжков [13] и весьма близко подошел Сухов [17].

Некоторые советские исследователи, признавая живую природу вирусов, считают их, однако, фильтрующимися формами бактерий.

Как известно, некоторые вирусные инфекции осложняются бактериальными. Так, при гриппе со значительным постоянством выделяется палочка инфлюэнцы, при чуме свиней — B. suipestifer.

До открытия вирусов, являющихся возбудителями этих болезней, эти бактерии считались их возбудителями. Когда, однако, было точно доказано, что возбудители этих заболеваний представляют собой фильтрующиеся вирусы, были сделаны попытки доказать, что эти вирусы являются фильтрующимися стадиями бактерий. Подобная попытка была сделана еще в 1907 г. Лоуренсом (Lourens [35]), доказывавшим, что фильтраты B. suipestifer вызывают чуму свиней. Эта гипотеза получила законченное выражение у Одюруа (1929), прямо писавшего о том, что «фильтрующийся вирус и бацилла являются двумя разными формами одного и того же возбудителя».

Подобная точка зрения была развита и некоторыми авторами в отношении сыпного тифа, полагавшими, что возбудителем сыпного тифа являются фильтрующиеся формы X_{19} (Крестовникова [8] и др.).

Наиболее законченное и обобщающее выражение эта гипотеза получила у Бошьяна [1]. Отличие его точки зрения от вышеизложенных заключается только в том, что Одруа и другие предполагали, что вирус представляет собой фильтрующуюся стадию определенного микроба, а у Бошьяна один и тот же вирус представляет собой фильтрующуюся стадию разных микробов. Так, например, вирус инфекционной анемии лошадей представлен у Бошьяна грамположительными биполярными палочками, грамотрицательными палочками, сарцинами, дрожжами и даже мицелиеобразными формами. Бошьян считает, что все эти формы являются стадиями развития вируса инфекционной анемии лошадей. Микробные формы, по сообщению Бошьяна, получены им из вируса ящура, энцефаломиелита лошадей, бешенства, японского энцефалита и инфлюэнцы свиней, однако отсутствуют какие-либо данные, характеризующие полученные им культуры.

В связи с гипотезой о том, что вирусы представляют собой фильтрующиеся формы бактерий, необходимо упомянуть о нижеследующем. При изучении этиологии вирусных болезней неоднократно выделялись микробы, обладающие свойством вызывать эти заболевания. Еще Ивановский столкнулся с этим явлением, выделив из нефильтрованного сока больного мозаикой растения бактерию, способную вызвать это заболевание. В последующем неоднократно при многих заболеваниях — оспа, корь, желтая лихорадка, чума свиней, сыпной тиф и другие — выделяли микробов, вызывающих в первых генерациях соответствующие заболевания. Все эти факты получили вполне рациональное объяснение при изучении явления симбиоза вирусов и микробов. Было установлено, что вирусы оспы, эктромелии, полиомиэлита, прибавленные к некоторым дрожжевым, бактерийным и протозойным культурам, адсорбируются ими и сохраняют свою вирулентность в таком адсорбированном состоянии.

Подобная адсорбция имеет место и в естественных условиях.

Симбиотические отношения между вирусами и микробами не ограничиваются адсорбцией. В ряде исследований было показано, что некоторые вирусы размножаются в симбиотических культурах с микробами и, в частности, с дрожжами. Подобные культуры были впервые получены

Зильбером и Воструховой [5] с вирусом оспенной вакцины. Большинство исследователей подтвердило эти данные. Симбиотические культуры были получены и с некоторыми другими вирусами — кори, ящура, герпеса и др. В некоторых случаях (с вирусом бешенства) были получены отрицательные результаты. Оценивая сейчас всю имеющуюся по этому вопросу литературу (см. Зильбер [4]), можно с уверенностью утверждать, что явление носительства вирусов микробами несомненно существует в естественных условиях и может быть воспроизведено в пробирке. В свете этих данных становятся понятными вышеупомянутые находки в вирусном материале бактерий, обладающих специфической патогенностью. Подобные бактерии являлись носителями соответствующих вирусов.

Эти данные заставляют также предъявить к авторам, защищающим представления о том, что вирусы являются фильтрующимися формами бактерий, требование о постановке необходимых контролей, исключающих наличие в выделенных ими микробных культурах адсорбированного или симбиотизирующего с ними вируса. Но подобные контроли никем из этих авторов поставлены не были. Непостоянство специфической вирулентности у микробных культур, выделяемых из вируссодержащего материала, отметил еще Ивановский. За более чем 40-летнее существование теории о том, что вирусы являются фильтрующимися формами бактерий, ни одним из сторонников этой теории ни разу не был предъявлен какой-либо новый микроб, обладавший специфической патогенностью вируса. Во всех описанных случаях эти микробы оказывались уже известными микробами, носителями вирусов. В настоящее время представляется очевидным, что эта теория не опирается на какие-либо достоверные факты или эксперименты.

Бактерии и вирусы представляют собой организмы, принадлежащие к различным классам живых существ, подобно спирохетам и риккетсиям или дрожжам и кокковым микробам. И подобно тому как нельзя представить себе, что дрожжи являются стадией развития кокков или спирохеты — стадией развития риккетсий, нет никаких достоверных данных для предположения, что вирусы являются стадией развития бактерий.

Каково же происхождение вирусов? И по этому поводу были высказаны некоторые малообоснованные гипотезы. Многие исследователи считают, что вирусы представляют собой дегенерировавших потомков патогенных бактерий или других микроорганизмов (Грин, Green [30]; Лэдлоу, Laidlaw [33]; Барнет, Burnet [24]), организация которых упрощалась по мере упрочения паразитизма. Сапрофит, проникающий в кишечник позвоночного, получает в готовом виде некоторые элементы питания, которые ему раньше приходилось синтезировать. Если он пойдет дальше по пути паразитизма и проникнет в ткани, он обеспечивает себе еще более богатую возможность получать в готовом виде нужные для обмена соединения и в конце концов сможет существовать, даже лишившись способности синтезировать те элементы питания, которые синтезировали его предки, жившие самостоятельно во внешней среде.

При суждении о вероятности подобного процесса необходимо учесть, что, упрощая свои ферментные системы, служащие для питания, микроб по мере развития паразитизма должен усложнять те системы, которые обуславливают его проникновение внутрь организма в ткани и затем в клетки, и что, следовательно, этот процесс не может трактоваться исключительно как процесс дегенерации. Во многих случаях благодаря этому возникновение паразитизма сопровождается не упрощением, а усложнением в некоторых отношениях организации паразита.

Малая вероятность подобной гипотезы становится очевидной при применении ее к происхождению бактериофагов. В настоящее время не приходится сомневаться в том, что бактериофаги представляют собой вирусы бактерий. Если стать на вышеизложенную точку зрения, приходится допустить, что одни бактерии приобрели способность паразитировать внут-

ри других и, упрощая свою организацию, превратились в бактериофагов. Более вероятным является предположение о том, что вирусы являются потомками первичных организмов, возникших на земле. Советские исследователи внесли много нового в изучение труднейшего вопроса о происхождении жизни на земле, и Опариным [10] создана наиболее соответствующая современным данным концепция.

Раньше считалось, что растительные организмы предшествовали животным и что автотрофный тип питания был первичным в сравнении с гетеротрофным. Это представление базировалось на том, что для гетеротрофных организмов нужны были органические вещества, которые могли доставляться автотрофными организмами, сами же автотрофы могли питаться органическими веществами. Новые данные показывают, что свободный кислород на земле мог происходить из органических соединений и отсутствовал на заре возникновения жизни. Но в первобытном океане было много органических веществ, из которых и возникло первое живое вещество. Представляется весьма вероятным, что окислительные процессы (дыхание) имеют вторичное происхождение и что первичным процессом, освобождающим энергию в первобытном живом веществе, был процесс молекулярной перестройки, подобный анаэробному брожению. Источником подобного процесса могла быть та масса сложного органического вещества, из которого возникло и живое вещество. В результате жизнедеятельности живого вещества должна была появиться угольная кислота.

Таким образом, гетеротрофные организмы с интрамолекулярным дыханием, не требовавшие для своего существования кислорода, должны были быть первичными. Автотрофные организмы возникли только после длительной эволюции. Они использовали солнечную энергию для расщепления углекислоты, в результате чего появился первый свободный кислород. Живое вещество получило возможность заменить невысокий в энергетическом отношении процесс анаэробного брожения более продуктивным окислительным процессом. Это описание первых стадий эволюции живого вещества, подробно изложенное Опариным [10], достаточно убедительно опровергает представление о том, что первыми организмами на земле были автотрофы.

Но были ли первичными организмами на земле метатрофы? Свет-Молдавский (1948) указывает на то обстоятельство, что метатрофный тип питания предполагает наличие у организма ряда ферментных систем, способных разлагать органические вещества и строить свое тело из продуктов этого разложения. Это сложный процесс, который возник уже на определенном этапе эволюции, но не мог быть первичным.

Живое вещество в периоде своего становления не могло обладать какими-либо сложными ферментными системами. Белковые вещества в тот период, когда они превращались в существа, могли поддерживать свой примитивный обмен простым присоединением к своим молекулам тех веществ, из которых они были построены,— полипептидов, аминокислот и т. п. Эти соединения должны были быть в первичном океане, так как только из них могли образоваться белковые молекулы. Для подобного прообраза питания вряд ли требовались какие-либо ферментные системы. Из существующих теперь организмов только паратрофы пользуются для построения своего тела готовыми промежуточными продуктами синтеза белков — низшими полипептидами и аминокислотами. Поэтому можно думать, что аналогичный паратрофному тип питания мог быть первичным. Первичные организмы, возникшие в океане, могли строить свое тело из имеющихся вокруг них аминокислот и простых полипептидов. Когда возникли клеточные организмы, эти первичные организмы в связи с обеднением первичного океана органическими продуктами могли приспособиться к внутриклеточному существованию, ибо внутри клеток они могли найти те метаболиты, которые ранее находили

в среде первичного океана. Таким образом, вирусы могли возникнуть раньше клеточных существ и затем стать их паразитами.

Основное возражение, выдвигавшееся против представления о вирусах как потомках первичных доклеточных организмов, заключалось в том, что вирусы в этом случае не могли быть паразитами клеточных организмов, ибо при возникновении вирусов клеточных организмов не существовало.

Вышеизложенные соображения, высказанные в 1948 г. Свет-Молдавским на конференции нашего института, устраняют это возражение.

Другое возражение против указанной гипотезы связано с отсутствием данных о сапрофитических вирусах. Если вирусы являются потомками свободно живущих доклеточных форм, нужно ожидать, что не все они превратились в паразитов. Необходимо, однако, указать, что понятие сапрофитизма в отношении вирусов должно иметь несколько иное содержание, чем в отношении бактерий. Сапрофитными вирусами мы должны называть не вирусы, вегетирующие во внешней среде, а вирусы, вегетирующие в организме, но не вызывающие в нем какого-либо инфекционного процесса. Если с этой точки зрения подойти к характеристике патогенности различных вирусов, то нужно отметить, что наряду с патогенными вирусами, вызывающими инфекционные процессы, существуют условнопатогенные вирусы, вызывающие инфекционный процесс только при определенных условиях, и, наконец, вирусы-сапрофиты, вегетирующие в тканях, но инфекционного процесса не вызывающие, подобно многочисленным бактериям, населяющим кишечник и полость рта животных организмов. К числу подобных, близких к сапрофитным, вирусов принадлежит, например, вирус подчелюстных желез морских свинок. Он может быть обнаружен в 84% здоровых взрослых свинок (Коул и Кутнер, Cole a. Kuttner [27]). При введении этого вируса в мозг молодым свинкам, свободным от него, у них развивается подостро текущий менингит. Но и заведомо сапрофитные бактерии, подобные, например, кишечной палочке, также могут вызывать при введении в мозг инфекционный процесс. Интересно отметить, что свинки, являющиеся носителями вируса подчелюстных желез, иммунны к внутримозговому его введению.

Существует и большая группа условнопатогенных вирусов. К ним относится вирус герпеса, который годами может развиваться в организме человека, не вызывая никаких признаков заболевания, и проявляет себя в качестве патогенного агента только при ослаблении макроорганизма, а также вирусы хориоменингита у морских свинок или мышиного полиомиэлита, которые обладают подобными же свойствами.

Среди вирусов, поражающих животных, можно подобрать постепенную скалу ослабления патогенности, начиная от вирусов кори и оспы, которые всегда вызывают заболевание в восприимчивом организме, до вышеназванного вируса подчелюстных желез морской свинки, который в естественных условиях не вызывает клинически выявляемого заболевания. Трудность обнаружения сапрофитических вирусов обусловлена отсутствием прямых методов их обнаружения. Можно надеяться, что эти методы будут разработаны при помощи электронной оптики.

Во всяком случае недостаточность наших сведений о сапрофитных вирусах не может быть противопоставлена гипотезе о том, что вирусы являются потомками доклеточных форм жизни. Таким образом, гипотеза о том, что вирусы являются потомками первичных доклеточных организмов, имеет достаточное обоснование.

Наиболее примитивные вирусы и прежде всего полученные в кристаллическом виде не имеют клеточного строения. Они представляют собой живое вещество, как его понимает О. Б. Лепешинская, т. е. живое вещество, обладающее способностью к обмену веществ, который является необходимым условием его существования. О. Б. Лепешинская писала:

«изучая живое вещество, мы можем понять происхождение вирусов и их природу и, с другой стороны, изучая вирусы, мы сможем лучше изучить и живое вещество и его природу, его происхождение» [9]. Это несомненно так, и, пожалуй, вирусы представляют собой наиболее удобный объект для изучения живого вещества, так как некоторые из них являются биологической формой, в которой живое вещество представляет собой организм, живое существо.

Получено 16.X.1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бошьян Г. О природе вирусов и микробов. Медгиз, 1944.
2. Гамалея Н. Фильтрующиеся вирусы. Медгиз, 1930.
3. Зильбер Л. О фильтрующихся вирусах. Социалист. реконструкция, № 3, 1936.
4. Зильбер Л. О симбиозе вирусов и микробов. Успехи совр. биол., **33**, 1, 81, 1952.
5. Зильбер Л. и Вострухова Е. О культивировании фильтрующихся вирусов на непатогенных микробах. Журн. микроб., эпид. и иммуноб., **11**, 1, 66, 1933.
6. Ивановский Д. О двух болезнях табака. Сельское хозяйство и лесоводство, № 2, 108, 1892; О двух болезнях табака. Мозаичная болезнь табака. Медгиз, 1949.
7. Кольцов Н. О природе ультравирусов. Биол. журн., **6**, № 1, 229, 1937.
8. Крестовников В., Журбина В. и Тараненко А. К вопросу о взаимосвязи Х-протея и риккетсии Провачек. Журн. микроб., эпид. и иммуноб., 8, 69, 1948.
9. Лепешинская О. Происхождение клеток из живого вещества и роль живого вещества в организме. Изд. АМН, 1950.
10. Опарин А. Происхождение жизни на земле. 1936.
11. Опарин А. Проблема происхождения жизни в современном естествознании. Сб. Философские вопросы современной биологии, 267, 1951.
12. Рыжков В. Влияние аминокислот и близких к ним соединений на репродукцию вируса табачной мозаики. ДАН СССР, **80**, 677, 1951.
13. Рыжков В. Научное наследие Д. И. Ивановского. Сб. Памяти Д. И. Ивановского, **22**, 1952.
14. Рыжков В. и Смирнова В. Накопление вируса табачной мозаики при лишении растений азота. ДАН СССР, **23**, № 1, 1939.
15. Сухов К. Вирусные белки и «теория» гена. Сб. Против реакционного менделизма-морганизма, 124, 1950.
16. Сухов К. Проблемы современной вирусологии. Сб. Философские вопросы современной биологии, 335, 1950.
17. Сухов К. Открытие Д. И. Ивановского в свете современных представлений о вирусах. Сб. Памяти Д. И. Ивановского, 52. Изд. АН СССР, 1952.
18. Сухов К. Проблемы вирусологии. Природа, № 2, 18, 1952.
19. Сухов К. Новые исследования вирусных заболеваний растений в Чехословакии. Природа, № 5, 82, 1952.
20. Bawden F. Plant viruses a. virus diseases. 1950.
21. Bawden F. Вирусы и вирусные болезни растений. Изд. иностр. литер., 1952.
22. Bawden F. a. Pirie N. Cristalline preparations of tomato bushy stunt virus. Brit. J. exp. Path., **19**, 251, 1938.
23. Beijerinck M. Ueber ein Contagium vivum fluidum als Ursache der Fleckenkrankheit der Tabaksblätter. Verhandl d. kon. Akad. Witensch. te Amsterdam. Tweede Sect. D. VI, 5, 1898.
24. Burnet F. Virus as organism. Harward Univ. Press. 1946 (русск. перев. 1947).
25. Cohen S. The synthesis of bacterial viruses. J. Biol. Chem., **174**, 281, 295, 1948.
26. Cohen S. Growths requirements of bacterial viruses. Bact. Rev., **13**, 124, 1949.
27. Cole R. a. Kuttner A. A Filterable virus present in the submaxillary glands of guinea pigs. J. exp. med., **1**, 44, 855, 1926.
28. Doerr R. Die Vermehrung der virusarten und ihre biologische Interpretation. Handb. Virusforsch., **1**, 72, 1938.
29. Evans E. Studies on the mechanism of reproduction of a virus. Bact. Rev., **14**, 3, 210, 1950
30. Green R. On the nature of filtrable viruses. Science, **82**, 443, 1935.
31. Hauduroy P. Les Ultravirus pathogènes et saprophytes. 1934.
32. Kausche C., Frankuch E. u. Ruska H. Beobachten über Schall- und Ultraschalleneinwirkungen am Protein des Tabacmosaikvirus. Naturw., **29**, 573, 1941.
33. Laidlaw P. Virus diseases and viruses. Camb. Univ. Press., 1938.
34. Levaditi C., Reinié S. Ultravirus et fluorescence. Ann. Past., **64**, 466, 1940
35. Lourens L. Untersuchungen uber die Filtrierbarkeit der Schweinepestbacillen (Bac. suipestifer). Ztbl. Bakt. Orig., **44**, 630, 1907.
36. Meneghini M. a. Delwiche C. J. Biol. Chem., **189**, 1, 1951.
37. Moriyama H. a. Ohashi S. «Infection» bei Proteindenaturierung und ihre Beziehung zur Virusvermehrung. Z. Immunitätsf., **99**, 419, 1941.
38. Neugebauer Th. Ueber eine physikalische Theorie der Selbstreproduction von Viren. Physik. Z., **40**, 406, 1939.

39. Northrop J. Concentration and purification of Bacteriophage. J. gen. Physiol., 21, 335, 1939.
40. Pirie N. Physical and chemical properties of tomato bushy stunt virus and the strains of tobacco mosaic virus. Advances in Enzymology, 5, 1, 1945.
41. Putnam F., Kosloff L. a. Neil J. Biochemical Studies of virus reproduction. J. Biol. Chem., 179, 303, 1949.
42. Remlinger P. et Bailly J. La rage est-elle nécessairement le résultat d'une contagion. Rev. d'Immunol. et de thérap. microb., 15, 4, 193, 1951.
43. Stanley W. The isolation a crystalline protein possessing the propertie of tobacco mosaic virus. Phytopath., 26, 305, 1936.
44. Stanley W. The reproduction of virus proteins. Am. Naturalist., 72, 110, 1938.
45. Stanley W. a. Anderson. A study of purified viruses. J. Biol. Chem., 139, 325, 1941.
46. Steer R. a. Robley C. Phytopath., 39, 23, 1949.
47. Woods A. The destruction of chlorophyll by oxydizing enzymes, 1899.

СТАДИЙНОЕ РАЗВИТИЕ МИКРОБОВ — ОБЪЕКТИВНАЯ РЕАЛЬНОСТЬ *

Г. П. Калина

Необходимо приветствовать и признать своевременной инициативу редакции журнала «Микробиология» в организации дискуссии по вопросу о неклеточных формах жизни у микроорганизмов. Серьезная и объективная критика ряда положений, связанных с этой проблемой, может только способствовать выяснению многих, еще неясных и могущих быть различно истолкованными деталей и фактов. Как учит И. В. Сталин, «...никакая наука не может развиваться и преуспевать без борьбы мнений, без свободы критики». За три года, прошедших со времени опубликования Крестовниковой и мной, одновременно и независимо друг от друга, гипотезы о стадийном развитии микроорганизмов, эта проблема впервые начинает подвергаться критическому анализу.

Статья А. С. Кривиского [14] является первой попыткой опровергнуть ряд положений, выдвигаемых Крестовниковой и мной, и основывается как на логических предпосылках, так и на некоторых собственных экспериментальных данных. Эта попытка заслуживает пристального внимания и подробного анализа, поскольку «в споре рождается истина».

Кривиский пытается критиковать предлагаемую нами гипотезу с позиций, как он полагает, мичуринского учения. Это тем более обязывает нас изучить подробно все возражения, выдвигаемые им.

Прежде чем начать разбор критических замечаний Кривиского, я должен выразить удивление по поводу непонятного объединения предложенной мной гипотезы с теориями Бошьяна и Утенкова. Теория Бошьяна [3], включающая в стадии развития кристаллизацию и отождествляющая фильтрующиеся формы с вирусами, и теория Утенкова, ставящая в основу стадийного развития половой процесс с образованием «зиготы» — фильтрующейся формы, являются, с нашей точки зрения, совершенно ненужными усложнениями объективно реального процесса стадийного развития, осуществляющегося в мире микроорганизмов. Кривискому следовало бы разграничить гипотезы стадийного развития, предлагаемые разными авторами, и анализировать каждую из них в отдельности. Более близкой к предложенной мной гипотезе является гипотеза Крестовниковой, хотя в отдельных деталях мы и расходимся. Объединяя различные гипотезы, Кривиский тем самым обезличивает их и заставляет отвечать одних авторов за неправильные, иногда, положения других.

В разборе критических замечаний Кривиского мы будем придерживаться той последовательности, в которой расположены эти замечания.

1. Кривиский упрекает нас в том, что мы проводим чисто внешнюю аналогию между стадийностью развития высших растений и стадийностью развития микроорганизмов, называя это формальным подходом в трактовке биологического значения фильтрующихся форм. Перенося общебиологические закономерности стадийного развития, вскрытые И. В. Мичуриным и Т. Д. Лысенко, на микробов, мы были далеки от мысли проводить аналогию между развитием растений и животных и

* Печатается в связи с дискуссией, проводимой журналом «Микробиология», по проблеме неклеточных форм у микроорганизмов.

развитием микробов: «Стадийное развитие растительного и животного мира не одинаковы. Также не сравнимы, надо думать, стадии развития бактерий и растений, бактерий и животных. Можно представить себе, что бактерийные клетки имеют свое собственное, присущее только им стадийное развитие, несравнимое со стадийным развитием растительных многоклеточных организмов» [10, стр. 129]. Где же здесь говорится о внешней аналогии? А с тем, что теория стадийного развития имеет общебиологическое значение, соглашается и сам Кривиский.

Существенным отличием стадийного развития микробов от стадийного развития высших организмов, в частности растительных, является: а) начало развития с доклеточных форм, а не с клетки (яйцевой, семенной и т. п.). Однако и О. Б. Лепешинская [15] подчеркивает, что начало эмбриогенеза животных организмов надо искать не в первичных клеточных элементах, дающих начало взрослому организму, а в доклеточном живом веществе; б) нерегулярность прохождения стадий и зависимость периодов развития от условий внешней среды; в) исключительная способность приспособления молодых стадий развития к условиям внешней среды, не имеющая себе равных у других, более высокоорганизованных существ; г) возможность длительной стабилизации в той или иной стадии; д) возможность перерыва развития на одной из стадий: зернистая стадия, например, может, распадаясь, дать начало вновь доклеточной стадии и развитие начинается снова.

2. В своих предположениях об онтогенезе микробов Кривиский становится на совершенно неправильные позиции, понимая под онтогенезом развитие микробной популяции от момента внесения в питательную среду микробных клеток до «старения» культуры. При этом он опирается на подобные же неправильные представления Н. Д. Иерусалимского [6, 7] и приводит данные последнего о различии в онтогенезе между маслянокислыми и ацетонбутиловыми бактериями, наблюдаемом в культурах, по мере их старения. Несомненно, что в процессе старения микробной популяции могут иметь место изменения характера обмена веществ, сопровождаемые изменениями морфологической структуры. Но как рассматривать с точки зрения подобной трактовки онтогенеза микробов их онтогенез в естественных для них условиях внешней среды, где нет культур, пересевов и т. п.? Можно ли говорить об онтогенезе лишь на основании искусственно создаваемых условий обитания? В неправильном представлении об онтогенезе и кроется у Кривиского источник невероятной путаницы в рассуждениях об онтогенезе и филогенезе, стадийности и изменчивости и т. п.

Мы понимаем онтогенез значительно шире и, как нам кажется, объективно более правильно, рассматривая стадии развития, как смены типов ассимиляции и морфологических структур на протяжении иногда значительного количества генерации (пересевов) на питательных средах и, соответственно, в условиях внешней среды. Можно задержать отдельные стадии развития иногда на неограниченно долгое время (что соответствует явлениям неотении в развитии высших организмов), и это, кстати, подтверждает и Кривиский, указывая, что ему удавалось сохранить «в неограниченном ряде пересевов и зернистую ... и микростадию...» В этом-то и заключается существенное отличие стадийного развития микробов от развития более сложно организованных существ. Чем более примитивен организм, тем менее регулярно у него можно наблюдать смены стадий. Это подчеркивала еще в 1929 г. Ивенс (Evans [27]).

3. Кривиский подчеркивает, что «сторонники гипотезы о стадийном развитии, возникновения и регенерации фильтрующихся форм совершенно игнорируют историческую обусловленность смены стадий и необходимость их разнокачественности для филогенетически разнородных организмов». Другими словами, по Кривискому, каждый микробный вид должен иметь свое собственное стадийное развитие, отличное от разви-

тия других микробных видов. Едва ли можно согласиться с подобной точкой зрения. Эмбриология учит, что даже у очень сложных организмов стадии эмбриогенеза сходны, если не тождественны. Не говоря уже о ранних стадиях развития оплодотворенной яйцевой клетки, где невозможно подметить какие-либо различия между эмбрионами самых различных видов, даже на более поздних стадиях сохраняется значительное сходство между эмбрионами амфибий, птиц, млекопитающих, включая и человека. Семена растений, хотя и различны у разных видов, но разница между ними все же меньшая, чем между взрослыми растениями. Почему же микроорганизмы, морфологически значительно более сходные между собой, должны быть исключением из этого общего биогенетического закона?

Предлагаемые нами стадии развития — доклеточная (фильтрующаяся), зернистая (микроформа), кокковая, бациллярная, как нам кажется, наиболее объективно отражают то филогенетическое развитие, которое можно предполагать у микробов, тем более, что эти стадии не надуманы, а реально существуют и наблюдались многими исследователями, в том числе и самим Кривиским.

4. Серьезным и заслуживающим внимательного рассмотрения является вопрос, поставленный Кривиским: «Можно ли найти биологическую необходимость в фильтрующихся стадиях в прошлом и настоящем исторического развития микроорганизмов, у которых найдены фильтрующиеся формы? Является ли эта форма обязательной стадией развития микроорганизма?» На эти вопросы сам Кривиский отвечает отрицательно, основываясь на явно неправильных представлениях о частоте возникновения фильтрующихся форм и их количестве.

По мере углубленного изучения фильтрующихся форм становится все более и более очевидным, что их устойчивость, сопротивляемость воздействиям факторов внешней среды, значительно превышает таковую вегетативных форм. Они сохраняются годами в запаянных фильтратах, выдерживают высушивание и термические воздействия, губительно действующие на вегетативные формы, переносят бактерицидные дозы формалина, фенола, хинозола и других дезинфицирующих веществ. Не присоединяясь полностью в этом вопросе к воззрениям Бошьяна, мы должны все же отметить, что исследования, проведенные в нашей лаборатории, в значительной степени подтверждают его предположения. Но даже если считать, что устойчивость фильтрующихся форм ниже устойчивости спор, но выше устойчивости взрослых бактериальных форм, то и этого достаточно, чтобы установить биологическое обоснование сохранения в процессе эволюции этой стадии как необходимой микробу для сохранения вида. Эволюционным путем выработалась и закрепилась необходимость данной стадии развития. С другой стороны, все ли этапы эмбриогенеза и онтогенеза высших организмов биологически необходимы? И только ли биологической необходимостью следует объяснять последовательный ход развития любого организма? Едва ли можно считать жаберные щели у человеческого эмбриона биологически необходимой деталью его эмбриогенеза. Они отражают филогенез данного организма так же, как описываемые нами стадии развития микробов, вероятно, отражают этапы их филогенетического развития.

Совершенно необоснованным является утверждение Кривиского о том, что «в вегетативной стадии микроорганизмы развиваются в сотнях и тысячах поколений в самых разнообразных условиях существования и выполняют свои основные функции, не переходя в фильтрующиеся формы». На чем основывается это утверждение Кривиского? На чисто мономорфистских, я бы сказал, даже — вирховианских представлениях о микробах как клетках, ниже которых жизнь не существует. В пробирке, во внешней среде и в организме человека и животных мономорфисты видят только клеточную стадию развития микробов, игнорируя все про-

чие стадии, в том числе и фильтрующуюся. А между тем многочисленными исследованиями установлено наличие фильтрующихся форм даже в «молодых», суточных культурах, не говоря уже о более старых, в различных объектах внешней среды, в человеческом и животном организме. Несомненным является то, что дочерние и карликовые колонии, наблюдаемые при высевах из старых культур или при старении колоний на чашках, при посевах из патологического материала или из объектов внешней среды, отражают спонтанно и непрерывно осуществляющееся стадийное развитие. Развитие фильтрующихся форм в последующие стадии совершается в естественных условиях непрерывно, и, следовательно, говорить о том, что «вегетативные формы» развиваются в сотнях и тысячах поколений, не переходя в фильтрующиеся формы, значит сознательно игнорировать действительное положение вещей.

Еще в меньшей степени соответствует фактам утверждение Кривиского о том, что фильтрующиеся формы возникают далеко не регулярно и что их количество ничтожно по сравнению с количеством клеточных форм в данной популяции. Приводя собственные исследования по этому поводу, Кривиский утверждает, что фильтрующиеся формы обнаруживаются только в 40—80 мл фильтрата, содержавшего до фильтрования не менее 8—16 млрд. жизнеспособных клеток. При исследовании нефильтрованных лизатов был получен аналогичный результат. Следовательно, по мнению Кривиского, ничтожное количество фильтрующихся форм, обнаруженное им, не связано с задержкой на фильтре. Рассуждая таким образом, Кривиский становится на позиции, защищавшиеся еще в 1908 г. Молишем (Molisch [40]), а в 1937 г. Штибеном [23]. Эти авторы также утверждали — один об отсутствии в природе ультрамикроскопических форм на том основании, что при посеве на обычные среды никогда не обнаруживаются колонии, состоящие из «невидимых» микробов, а второй — что при посевах фильтратов на те же обычные среды вырастает ничтожно малое количество колоний. Эти взгляды, как и утверждения Кривиского, отражают метафизический подход к проблеме стадийного развития и игнорируют то совершенно абсолютное положение, что для развития каждой стадии, в том числе и для образования из доклеточной стадии зернистой и клеточной стадий необходимы определенные условия, быть может, совершенно отличные от тех, при которых способны развиваться взрослые клеточные стадии. В этом отношении Д'Эрелль (D'Herelle [35]) оказался более прогрессивным, чем Кривиский, утверждая еще в 1926 г., что «протобактерии, вероятно, очень многочисленны в фильтратах, но очень малое количество их способно возвратиться в видимую форму в условиях опыта». Напомню, что если ранние исследования фильтрующихся форм и давали результаты, сходные с результатами, полученными Кривиским, то в последующем, по мере усовершенствования методики регенерации, констатировались все бóльшие и бóльшие количества доклеточных форм. Так, уже Новогрудский и Мессинева [20] определяли количества фильтрующихся форм почвенных микробов в фильтратах почвы в пределах до 1000 единиц в 1 мл. Гедли (Hadley [33, 34]) давал несколько бóльшие цифры — тысячи единиц. Бакало [1, 2] с сотрудниками разводили культуры до 10^{-12} степени и тем не менее получали при помощи кормилок рост многочисленных колоний. В последующем Бакло еще больше увеличил разведения — культуры разводились с таким расчетом, что в 1 л должна была находиться одна особь. Тем не менее при посеве на чашки с кормилками и из этой практически бесклеточной жидкости был получен рост нескольких колоний. Жуков-Вережников [5] с сотрудниками обнаруживали при помощи кормилок кишечную палочку в воде, разведенной в 1 млн. раз, тогда как обычный посев воды давал положительный результат лишь в разведении 1 : 10 000. Эти данные касаются нефильтрованного материала. Но не меньшие количества фильтрующихся форм обнаружены и в фильтратах,

Матвеевский и Малютина [17] разводили фильтраты взвеси агаровой культуры, содержавшей до фильтрации 500 млн. микробных тел, в 5 млн. раз. Фильтрующиеся формы были обнаружены в 0,05 мл такого разведенного фильтрата. В фагофильтратах Кендалль и Уокер (Kendall a. Walker [36]) закономерно обнаруживали фильтрующиеся формы в разведениях 10^{-6}—10^{-8}. Могу привести собственные исследования над фаголизатом кишечной палочки: свежеприготовленный лизат был разведен до 10^{-12} бульоном и поставлен в термостат. Через 1—2 суток в разведениях 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, появился рост типичной, но слизистой и фагорезистентной кишечной палочки. Имел место, следовательно, вторичный рост фагорезистентных форм. Через 10 дней появился нежный рост в разведении 10^{-8}, а еще через 2 суток — в разведении 10^{-7}. Выделенные культуры обладали всеми свойствами вторичных культур — морфологический полиморфизм, первоначально зернистые формы, биохимическая инертность, нежный, замедленный рост. Типичные свойства кишечной палочки были восстановлены лишь после ряда пересевов. Из разведений 10^{-9}, 10^{-10}, 10^{-11} удалось при применении более совершенного метода регенерации также выделить вторичные культуры. Следовательно, в конечном результате содержание доклеточных форм в фаголизате достигало 100 млрд. в 1 мл. После этого едва ли можно соглашаться с положением Кривиского о том, что в фаголизате образуется одна фильтрующаяся форма на 40—80 мл среды. Все зависит от условий, в которых осуществляется прохождение микробом стадий его развития.

Кривиский предвидит это возражение, но считает, что само возражение является опровержением стадийности возникновения фильтрующихся форм: «Нельзя себе представить настолько неприспособительные (? — *Г. К.*) стадии развития, которые требовали бы для перехода в следующую стадию огромного количества времени и исключительно полноценных питательных сред. Организмы с такими невыгодными для существования стадиями были бы уничтожены естественным отбором». Здесь, что ни положение,— то свидетельство полного непонимания процесса стадийного развития. Прежде всего — насчет фактора времени: напомним Кривискому семя растений, отнюдь не проводя аналогии между этой начальной стадией развития растительного организма и доклеточной стадией микробов. Сколько может сохраняться семя до тех пор, пока не попадет в условия, благоприятствующие его прорастанию? Если не ошибаюсь, семена, извлеченные из египетских саркофагов, сохраняли свою всхожесть и прорастали при предоставлении им благоприятных условий. Второе — упоминавшаяся мной выше значительная устойчивость фильтрующихся форм полностью опровергает тезис Кривиского о «невыгодной для существования» стадии. Именно стадия фильтрующихся форм является у микробов наиболее выгодной для существования стадией, особенно в неблагоприятных условиях внешней среды. Недаром Лоденкемпер (Lodenkämper [37]) видел в фильтрующихся формах формы устойчивости, нечто вроде спор. Это, конечно, не споры ни по своему морфологическому строению, ни по биохимическому субстрату, но функционально фильтрующиеся формы в какой-то мере обеспечивают сохранение вида в неблагоприятных условиях внешней среды, с чем собственно полностью согласен Кривиский. Третье, что не учтено Кривиским и что полностью сводит на-нет его утверждение о неприспособительном характере фильтрующейся стадии,— это то, что является основным законом стадийного развития в биологии,— каждая стадия требует определенных условий существования. Кривиский явно путает те искусственные условия, которые мы стремимся создать для форсированного прохождения стадий развития, в виде, например, полноценных белковых сред, с условиями, которые существуют в естественной среде обитания микробов. Смешивать те и другие условия так же неправильно, как неправильно смешивать мясопептонный бульон, в кото-

ром мы культивируем большинство микробных видов, с естественной средой, в которой эти виды обитают. Если мы предпочитаем применять для форсирования размножения микробов в лабораторных условиях искусственные среды, да еще прибавляем в них в ряде случаев углеводы, нативные белки и т. п., то почему нельзя подбирать такие же искусственные условия для форсирования прохождения микробами стадийного развития? Игнорирование этого простого факта и приводит Кривиского к абсурдному выводу о том, что в естественных условиях микробы в течение своего филогенеза не могли постоянно обеспечиваться таким полноценным питанием. Не следует забывать о том, что в естественных условиях микробы, как правило, находятся в многочисленных ассоциациях и, с этой точки зрения, метод Сукнева [21], при котором прохождение стадий стимулируется при помощи «кормилок», является наиболее биологичным и, вероятно, в известной степени отражает процессы, имеющие постоянно место во внешней среде. Свидетельством тому являются гомологичные «кормилки» в колониях и культурах, постоянно стимулирующие переход фильтрующихся форм в последующие стадии развития (дочерние колонии, карликовые колонии).

5. Убедительным, на первый взгляд, возражением Кривиского является то, что фильтрующиеся формы образуются в результате распада микробных клеток под влиянием самых различных механических (длительное встряхивание, растирание), физических (замораживание и оттаивание, плазмолиз в дестиллированной воде), биологических (иммунная сыворотка, антибиотики, бактериофаг) воздействий. Несомненно, все это насильственное прекращение нормального существования микробной клетки как таковой. Формально рассуждая, распад клеток под влиянием всех этих факторов является патологией микробной клетки и все эти факторы как будто могут быть квалифицированы как факторы воздействия, а не условия существования. Однако нам приходилось уже подчеркивать, что распад под влиянием многих из этих факторов настолько част в природе, что микробы в процессе своей эволюции не могли не выработать способности сохранять свой вид в жизнеспособных частицах, поступающих во внешнюю среду после такого распада. Кривиский не согласен с этим положением. Пусть так. Обратимся к естественному распаду микробной клетки в результате так называемого автолиза. По Кривискому, этот распад наиболее част как отражение естественной гибели клетки под влиянием автолитических ферментов. Мы также считаем, что именно этот тип распада микробных клеток является наиболее физиологичным. При этом мы исходим из положения О. Б. Лепешинской о том, что не существует деления клеток на две равные дочерние клетки. Есть отделение дочерней клетки от материнской. Постепенно материнские клетки (а их становится все больше и больше в процессе развития микробной популяции) стареют, утрачивают способность к росту и размножению и распадаются. Клетка как таковая перестает существовать, но жизнь сохраняется в доклеточном живом веществе, дающем начало новому развитию клеточных форм — новому стадийному развитию.

Физиологический распад начинается в культурах уже после 24-часового культивирования, еще быстрее, вероятно, он осуществляется в условиях внешней среды. Совершенно умозрительным и лишенным каких-либо логических предпосылок является утверждение Кривиского о том, что при подобном физиологическом распаде фильтрующиеся формы не образуются. Многочисленные факты обнаружения фильтрующихся форм в суточных и двухсуточных культурах, в которых при самых тщательных поисках бактериофаг не обнаруживается и отсутствуют все те факторы воздействия, о которых упоминалось выше, убедительно опровергают это положение Кривиского.

6. Кривиский допускает, что в цикл развития некоторых, не всех,

микробов, например, азотобактера, могут входить мельчайшие формы, проходящие через бактериальные фильтры. Там, следовательно, где образуются мелкие клеточные формы, можно говорить о цикле развития, там же, где стадийное развитие начинается с доклеточных форм жизни, Кривиский изыскивает всяческие (и как мы уже убедились — несостоятельные) возражения для опровержения возможности распространения на микроорганизмы общебиологического закона стадийного развития. Подобные же вирховианские предположения были высказаны в 1933 г. Уиковым (Wyckoff [44]) и в 1937 г. Штибеном. В 1935 г. Новогрудский убедительно показал, что образование мельчайших клеточных элементов в культурах азотобактера при некоторых условиях культивирования не отражается на увеличении количества фильтрующихся форм в фильтратах культур этого микроба.

7. Наиболее веским, по мнению Кривиского, доводом против гипотезы стадийного развития являются «очень часто наблюдаемые при регенерации фильтрующихся форм изменения наследственности микробов». При этом Кривиский ссылается на известное положение Лысенко о том, что при прохождении организмом цикла индивидуального развития, «как правило, каждое данное поколение растений или животных развивается во многом так же, как и его предшественники, в особенности ближайшие». Следовательно, по Кривискому, гипотезе стадийного развития мешает то, что в результате прохождения стадий получается организм с другими свойствами и признаками, чем исходный штамм. К сведению Кривиского — далеко не так редко вторичные культуры, получаемые в результате прохождения ими стадийного развития, полностью соответствуют исходному штамму. Чем совершеннее метод регенерации, тем чаще это происходит. Для многих исследователей подобная реверсия является единственным критерием достоверности результатов опыта и отсутствия «экзогенного загрязнения», с чем, конечно, полностью нельзя согласиться. Факты подобной реверсии, следовательно, делают довод Кривиского совершенно несостоятельным. С другой стороны, Кривиский забывает основное положение мичуринской биологии, согласно которому расшатанность наследственных свойств, способность приспосабливаться к меняющимся условиям существования наиболее сильно выражены у юных стадий развития организма, т. е. применительно к микробам — во время прохождения ими фильтрующейся, зернистой и юной бациллярной стадии. Сам же Кривиский цитирует (а потом забывает) Лысенко, указывающего на то, что «изменения наследственности обычно являются результатом развития организма в условиях внешней среды, в той или иной мере не соответствующих природным потребностям, т. е. его наследственности». В этом высказывании мы видим полное подтверждение объективной правильности наших представлений о стадийном развитии микробов и об отношении их изменчивости к стадийному развитию. Кривискому не следует забывать о том, что вторичные культуры, образующиеся в результате прохождения микробом стадийного развития, получаются нами в условиях совершенно искусственных и ни в коей мере не соответствующих природным потребностям данного вида микроба. И именно в приспособлении юных стадий развития к таким несоответствующим условиям мы видим наиболее яркое подтверждение правильности нашей гипотезы.

Многочисленные примеры трансформации одного микробного вида в другой, уже существующий, наблюдавшиеся при изучении регенерации фильтрующихся форм и являющиеся с практической точки зрения особенно важными, имеют одну, выявляющуюся почти всегда закономерность: новый вид, возникающий после прохождения стадийного развития, соответствует обычно филогенетически более древнему виду. Так, из фильтрующихся форм дизентерийных микробов типа Шига образуется тип Флекснера, из типа Флекснера — паратифозные или ки-

шечные палочки, из тифозной — те же виды, из дифтерийных палочек — дифтероиды типа бактерии Гофмана, из человеческого типа туберкулезных палочек — бычий или птичий тип. Мы рассматриваем это явление как проявление атавизма, возникновение в процессе стадийного развития свойств, филогенетически соответствующих предкам данного микроба, фильтрующиеся формы которого изучаются. Это же особенно наглядно выявляется тогда, когда исследуемый вид может считаться возникшим буквально на наших глазах. Можно привести пример из практики нашей лаборатории: нашими предыдущими исследованиями было показано, что в результате вегетативной гибридизации в кишечнике дизентерийных больных дизентерийные бактерии приобретают свойства, сближающие их с кишечной или паракишечной палочкой. Наблюдалось приобретение свойств бактерий Моргана (образование сероводорода, подвижность, газ на среде с глюкозой). Удается возвратить таким «замаскированным» штаммам их исходные свойства — дизентерийных бактерий. Из подшефной нам практической лаборатории был получен штамм палочки Моргана, свеже выделенный из испражнений дизентерийного больного, вполне типичный по своим свойствам и агглютинирующийся антимогановской сывороткой. После тщательной проверки чистоты культуры методом Грассе из штамма были получены фильтрующиеся формы и в результате прохождения последними стадийного развития — вторичная культура. Для идентификации культура была передана в ту же лабораторию. Культура была идентифицирована как дизентерийная, типа Флекснера, биохимически и серологически. Следует подчеркнуть, что последние полгода наша лаборатория не работает с дизентерийными культурами и не имеет их в музее.

Все эти данные нами приведены для того, чтобы показать, что далеко не всегда наблюдаемые в результате стадийного развития явления изменчивости могут быть квалифицированы как вновь приобретаемые свойства и признаки, а возникают как результат восстановления свойств отдаленных или ближайших предков. Это то, что Лысенко определяет как реализацию в данных условиях внешней среды находившихся в рецессиве признаков.

С другой стороны, несомненные проявления стадийности развития — возникновение из доклеточных форм мельчайших зернистых элементов, из последних более крупных кокковидных, а затем палочковидных Кривиский расценивает как проявление приспособительной изменчивости, связанной с теми или иными условиями среды. Это совершенно не выдерживает критики хотя бы потому, что упомянутые стадии возникают в процессе прохождения стадийного развития у всех микробов и вне зависимости от условий среды. Именно здесь меньше всего можно говорить о приспособительном характере этих морфологических этапов развития, в противоположность сменам типов ассимиляции, которые действительно в значительной степени определяются условиями среды. Морфологически же стадии исторически обусловлены всем предшествующим филогенетическим развитием микробов. Обвиняя нас в смешении понятий онтогенеза и изменчивости, Кривиский сам немилосердно путает эти понятия, сводя несомненный процесс развития к приспособительной изменчивости. Насколько это заводит Кривиского в тупик, видно хотя бы из того, что на стр. 603 Кривиский излагает (и довольно правильно) сущность связи изменчивости и стадийного развития, хотя как будто и отрицает эту связь применительно к микробам: «Каждая из последовательно возникающих в процессе регенерации (мы, между прочим, не видим большой разницы между регенерацией и развитием, но в данном случае правильнее было бы выразиться — в процессе стадийного развития.— *Г. К.*) форм отличается своей большей приспособленностью к тем условиям, в которых идет регенерация. В результате, в зависимости от

условий жизни, создаются формы или тождественные исходным или отличающиеся от них, но во всех своих свойствах наиболее соответствующие этим условиям и поэтому на последнем этапе обладающие достаточно выраженным консерватизмом наследственности». Именно так и следует представлять возникновение новых видов или форм в результате прохождения микробами стадий развития и сопутствующего влияниям внешней среды. Кажется, что ни Крестовникова, ни я не смогли бы яснее изложить зависимость изменчивости от стадийного развития, чем это сделал за нас Кривиский. Так просто и ясно можно разграничить два процесса — стадийное развитие и изменчивость, а Кривиский, правильно, по существу, излагая сущность стадийного развития, вносит невероятную путаницу, навязывая нам смешение двух зависящих друг от друга, но совершенно различных понятий.

8. Говоря о связи фильтрующихся форм с вирусами, Кривиский впадает в ошибку, свойственную как некоторым сторонникам стадийности развития микробов (Бошьян [3,] Утенков [22], Крофтон (Crofton [26]), так и их оппонентам: полное отождествление вирусов (всех) с фильтрующимися формами. Такая точка зрения примитивна и, конечно, не может соответствовать истинному положению вещей. Однако связь некоторых «вирусов» с так называемыми попутчиками неоспорима и Кривиский чересчур субъективно заявляет, что «положения Крестовниковой о генетических связях между вирусами и клеточными микробами пока что недостаточно доказательны и основаны на не вполне убедительных экспериментах». Положения Крестовниковой неубедительны и недоказательны только для тех, кто не дал себе труда объективно проанализировать все эксперименты, с одной стороны, а с другой стороны,— счел лишним лично проверить (и проверить не предвзято) шаг за шагом все опыты.

Прежде всего начну с проблемы происхождения вирусов. Эта проблема такова, что все решения ее так или иначе могут быть только умозрительными и особенно защищаемое Кривиским предположение о происхождении вирусов из первичных неклеточных форм жизни. По этой «теории» от первичных неклеточных форм жизни эволюция происходила в двух направлениях. С одной стороны, возникли клеточные формы, давшие все многообразие животного и растительного мира, с другой стороны — неклеточные формы, вся эволюция которых на протяжении сотен и тысяч лет шла в одном, чрезвычайно одностороннем направлении — приспособлении к паразитарным, внутриклеточным условиям существования. Вся природа бесконечно эволюционировала, развивалась, приспосабливалась к разнообразным условиям существования, только неклеточные формы были исключены из этого общего эволюционного закона, ибо серьезно говорить об «эволюции» в направлении лишь паразитизма не приходится. Это, конечно, не эволюция в прямом смысле этого слова.

Другая гипотеза, несомненно, более правдоподобна. Она ведет начало вирусов от клеточных форм, которые в организме утрачивали постепенно все свойства, становившиеся ненужными им в процессе приспособления к паразитарным условиям существования. Поскольку одноклеточные микроорганизмы существовали на протяжении всей эволюционной истории жизни, возникновение из них вирусов могло происходить также все это время и, возможно, в сравнительно близкие к нам эпохи. Распадаясь в организме на фильтрующиеся формы, микробы задерживались в своем развитии. Явления стабилизации в одной стадии, примеры которой приводит и сам Кривиский, в данном случае сказались в закреплении в самой ранней стадии — в стадии доклеточных форм. Последним этапом явилась утрата самостоятельных ферментных систем и полная подчиненность обмену веществ клеток организма-хозяина. Так образовались вирусы. Но, образовавшись, они

утратили черты сходства с фильтрующимися формами, из которых они произошли.

Несомненно, что эволюция вирусов шла в различных случаях неравномерно. В одних случаях закрепление в состоянии внутриклеточного паразитизма было настолько стойким, что вирусы полностью утратили способность к прохождению стадий развития и к выявлению в процессе своего индивидуального развития рецессивных признаков, признаков их отдаленных предков — клеточных форм. Таковы, вероятно, возбудители нейроинфекций, оспы, растительные вирусы и ряд других, которые по праву могут именоваться истинными вирусами. Эволюция других вирусов, надо думать, находится на таком этапе, на котором еще возможно проявление атавизма в виде возникновения клеточных форм, которые и обнаруживаются как «попутчики»,— таковы возбудители чумы свиней, скарлатины, кори, сыпного тифа, гриппа, пситтакоза и, возможно, некоторых других «вирусных» заболеваний, при которых обнаруживаются (или будут обнаружены) постоянно одни и те же микробы. Вот о генетической связи подобных «вирусов» с клеточными формами и говорит, достаточно убедительно, Крестовникова. Голословные возражения Кривиского противопоставляются экспериментальным данным. Преимущество не на стороне Кривиского. Фильтрующиеся формы, стабилизировавшиеся до степени «вирусных» форм, утрачивают все черты сходства с обычными, широко распространенными фильтрующимися формами. Следовательно, все доводы Кривиского, убеждающего нас в разнице между фильтрующимися формами и вирусами, становятся совершенно бесполезными. Может быть, можно говорить даже о возникновении нового вида в результате стабилизации данной стадии развития, о чем еще в 1926 г. писал Меллон (Mellon [39]).

Если для гипотезы, которой придерживается Кривиский, отсутствуют какие-либо экспериментальные доказательства и она может рассматриваться как плод досужих размышлений, как взгляд и нечто, то для второй гипотезы такие доказательства, хотя бы косвенные, существуют. Напрасно Кривиский приводит в качестве примера мои исследования, опубликованные в 1941 г. Можно согласиться, что они мало убедительны с точки зрения подтверждения гипотезы о происхождении вирусов из клеточных форм, хотя и подтверждают возможность стабилизации фильтрующихся форм без перехода в последующие стадии в ряде пассажей через животных. В литературе имеются исследования, более убедительные, доказывающие с несомненностью, что можно из микробов возбудителей бациллярных заболеваний — тифозной палочки, холерного вибриона — получить в результате пассажей через животных формы, которые приобретают в значительной степени черты сходства с «вирусами». Таковы исследования Фридбергера (Friedberger [30]), Бишелье (Bisceglie [25]), Джьяни (Giani [31]), Маграсси (Magrassi [38]). Своеобразная клиническая форма заболевания, возникновение иммунитета как к вирусной форме, так и к исходной бактерийной доказывали специфичность процесса. Несомненно, что полной стабилизации вирусных форм при этом не происходило. Фейгиной (Fejgin [28, 29]) удавалось получать после ряда пассажей через животных вторичные культуры клеточных форм. Гедли и Карапетьян (Hadley a. Carapetian [33]), однако, смогли выделить вторичные культуры лишь тогда, когда применялись методы регенерации уже вне организма животного, т. е. переход в последующие стадии имел место в пробирке, а не в организме. Непосредственные же посевы материала от пассажных животных оставались «стерильными». Разве это не напоминает аналогичного явления хотя бы при сыпном тифе, при котором из крови больных удавалось выделить культуры Х-протея только при форсировании в пробирке стадийного развития (Фейгина), а Крестовниковой с сотрудниками — получить зернистую стадию развития того же микроба.

9. Совершенно подобное же положение можно предполагать и при выяснении природы «микробного вируса» — бактериофага. Несомненно, что отождествление фага с фильтрующимися формами ошибочно, и в этом можно полностью согласиться с Кривиским. Однако также несомненно происхождение фага из фильтрующихся форм. Образуется фаг не на какой-то неизвестной стадии развития, как язвительно замечает Кривиский, а в результате длительного существования частиц живого доклеточного вещества в присутствии нежизнеспособных продуктов распада микробных клеток, гомологичных или гетерологичных. Трансформация фильтрующихся форм в бактериофаг есть результат качественного изменения их свойств, возникновения нового вида. Следовательно, говорить о внутривидовом антагонизме не приходится. Образовавшийся фаг полностью теряет сходство с породившими его фильтрующимися формами, хотя, по Крестовниковой, и сохраняет некоторую общность антигенного строения. Кривиский называет предлагаемую мной гипотезу о происхождении фага спекулятивным построением, не имеющим никакого экспериментального подтверждения, и в опровержение этой гипотезы повторяет старые доводы Д'Эрелля о латентном симбиозе бактерия — бактериофаг. Обращает внимание, однако, что в подтверждение своих доводов Кривиский приводит как собственные опыты, так и данные некоторых зарубежных исследователей, касающиеся исключительно лизогенных, т. е. фагорезистентных культур. Многочисленными авторами (Байль, Отто и Мунтер, Зейфферт, Гильдемейстер, Фейгина и Супневский, Дроботько, Израильский, Рено и многие другие) было показано, что в стареющих культурах микробов, не фагорезистентных, а фагочувствительных рано или поздно появляется бактериофаг. Могу привести и собственное наблюдение: бульонная культура дизентерийной палочки Флекснера, вполне типичная, фагочувствительная, после девятидневного пребывания в термостате при фильтрации обнаружила наличие бактериофага. Фаг лизировал в титре 10^{-8} ряд музейных штаммов, в том числе и исходный штамм, из которого был получен фаг. В данном случае предполагать латентное носительство культурой фага не приходится. Многочисленные высевы исходного штамма не выявляли ни изъеденных колоний, ни стерильных пятен. Больше того, повторный посев того же штамма в бульон и длительная инкубация последнего в термостате дали отрицательный результат. На этот раз фаг обнаружен не был. Откуда же в первом случае появился фаг? Предоставляем Кривискому право ответить на этот вопрос. Таким образом, предлагаемое мной объяснение происхождения бактериофага имеет некоторые экспериментальные подтверждения, опирается на исследования многочисленных авторов и, следовательно, не может считаться спекулятивным.

Подводя итог всему изложенному выше, мы полагаем, что если кем и допущена путаница и смешение понятий явлений регенерации, онтогенеза, наследственной изменчивости и филогенеза, так это Кривиским. Ознакомление Кривиского с мичуринской биологией оказалось недостаточным для того, чтобы внести какие-либо коррективы в наши представления о биологической роли фильтрующихся форм, а вирховианское наследие, давлеющее еще в умах некоторых микробиологов, в том числе и Кривиского, привело его к ряду ложных выводов и положений. Нам кажется несколько смелым и самоуверенным утверждение Кривиского о том, что «гипотеза стадийного развития микроорганизмов, в том виде, в каком она предлагается Калиной, Крестовниковой..., не может удовлетворить советского микробиолога». «Советский микробиолог» — понятие обобщающее, и едва ли Кривиский имел в виду только себя, когда применял это понятие. А говорить от имени широких масс советских микробиологов Кривискому никто и никогда не давал права. Возможно, что его воззрения разделяются небольшой группой микробиологов и эпидемиологов, тем более, что имеются еще и такие ученые, кото-

рые до сего времени, даже после блестящих работ О. Б. Лепешинской, не признают существования фильтрующихся форм бактерий. Но, надо надеяться, широкие массы прогрессивно настроенных советских микробиологов, принявших учение Мичурина — Лысенко не формально, а по существу, едва ли согласятся с доводами Кривиского, безуспешно попытавшегося опровергнуть гипотезу стадийного развития микробов. При всем том я выражаю глубокую благодарность Кривискому за то, что он дал мне возможность еще раз обосновать и привести лишние доводы в пользу предлагаемой мной гипотезы стадийного развития.

Получено 20.X.1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бакало А. Е. К вопросу о существовании фильтрующихся форм B. pestis. Тр. Рост. н/Д. гос. научно-иссл. противочумного ин-та, **1**, 45, 1939.
2. Бакало А. Е., Ведищев С. В., Сабинин А. В., Егоров А. Н. и Прикуров В. С. О симбиозе B. pestis и B. pseudotuberculosis rod. Pfeiffer'a с сарцинами. Вестн. микроб., эпид. и паразитол., **10**, 241, 1931.
3. Бошьян Г. М. О природе вирусов и микробов. М., 1949.
4. Дроботько В. Г. К изучению спонтанной бактериофагии. Микроб. ж., 8, 66, 1929.
5. Жуков-Вережников Н. Н., Гуревич Е. М. и Филатова К. В. К вопросу о сущности и значении бактериофагии. 1. Значение бактериофагии для изучения биологии микробов кишечной группы в условиях естественных водоемов в связи с новыми взглядами на сущность феномена D'Hérelle. Вестн. микроб., эпид. и паразитол., **13**, 19, 1934.
6. Иерусалимский Н. Д. О физиологических стадиях развития бактерий. Микробиология, XV, 405, 1946.
7. Иерусалимский Н. Д. Проблема онтогенеза бактерий и пути к ее разрешению. Тр. Ин-та микробиологии АН СССР, I, 5, 1951.
8. Израильский В. П. Явления бактериофагии (феномен D'Hérelle) и рак растений. Вестн. бактериолого-агрономич. станции, № 24, 143, 1926.
9. Калина Г. П. К вопросу о роли авизуальных форм брюшнотифозного микроба в инфекционном процессе. Ж. микроб., эпид. и иммунол., № 3, 76, 1941.
10. Калина Г. П. Изменчивость патогенных микроорганизмов. Киев, 1949.
11. Крестовникова В. А. Вопросы этиологии инфекций в зависимости от стадий развития возбудителя. Тр. конф. по изменчивости микробов 25—28 ноября 1948, Горький. 1949, стр. 87.
12. Крестовникова В. А. К учению о стадиях развития микроорганизмов. М., 1950.
13. Крестовникова В. А., Журбина В. И. и Измайлова Н. Б. К вопросу о природе бактериофага. Тр. конф. по изменчивости микробов 25—28 ноября 1948, Горький, 1949, стр. 139.
14. Кривиский А. С. О роли фильтрующихся форм в биологии микроорганизмов. Микробиология, XXI, 596, 1952.
15. Лепешинская О. Б. Происхождение клеток из живого вещества и роль живого вещества в организме. М., 1950.
16. Лысенко Т. Д. Агробиология, М., 1948.
17. Матвеевский Б. Г. и Малютина В. Г. К методике выделения гемокультур. Изв. Азово-Черномор. краевого ин-та микроб. и эпид., вып. 15, 41, 1936.
18. Мичурин И. В. Избранные сочинения. М., 1948.
19. Новогрудский Д. М. О фильтрующихся формах азотобактера. Микробиология, 4, стр. 176, 1935.
20. Новогрудский Д. и Мессинева М. Невидимые формы почвенных бактерий. Микробиология, 3, 470, 1934.
21. Сукцев В. В. и Вольферц Г. А. Выявление фильтрующихся форм бактерий с помощью «кормилок» из бактериофагных фильтратов и сущность феномена бактериофагии. Вестн. микроб., эпид. и паразитол., **11**, 239, 1932.
22. Утенков М. Д. Микрогенерирование. М., 1941.
23. Штибен В. Д. Изменчивость бактерий. Бюлл. Ин-та эпид и микроб. 5, вып. 2/3, 8, Ташкент, 1937.
24. Bail O. Bakteriophagewirkung gegen Flexner- und coli-Bakterien. Wien. kl. Wschr., 4, 447, 1921.
25. Bisceglie V. Suila produzione di un virus filtrabile negli animali infettati con vibrione colerigeno. Giorn. di Batter. e. Immun., 3, 449, 1928.
26. Crofton W. The true nature of viruses. London, 1936.
27. Evans A. Life cycles of bacteria. J. Bact., **17**, 63, 1929.
28. Fejgin Br. Untersuchungen über das Fleckfiebererregers. Krankheitsforsch., **5**, 87, 1927.

29. Fejgin Br. et Supniewski. Sur la nature du phénomène de d'Hérelle. C. R. Soc. Biol., **89**, 1385, 1923
30. Friedberger E. Ueber Bakterienvirus (Kriptantigenes Virus) nach Versuchen mit Typhusvirus. Z. Immun., **53**, 339, 1927.
31. Giani P. Osservazioni e ricerche sulla filtrabilità del batterio del tifo. Giorn. di Batter. e. Immun., **4**, 345, 1929.
32. Gildemeister E. u. Herzberg K. Ueber das d'Hérellesche Phänomen. III Mitt. Ztbl. Bakt., 1 Orig., **91**, 12, 1924.
33. Hadley Ph. a. Carapetian H. A study of the infective qualities possessed by G phase culture of Bacillus typhosus. J. Bact., **25**, 94, 1933.
34. Hadley Ph., Delves E. a. Klimek J. The filterable forms of bacteria. I. A filterable stage in the life history of the Shiga dysentery bacillus. J. Inf. Dis., **48**, 1, 1931.
35. d'Hérelle F. Le bactériophage et son comportement. Paris, 1926.
36. Kendall A. a. Walker A. Occurence of bacteria in the filtrable state in active bactériophage. J. Inf. Dis., **53**, 355, 1933.
37. Lodenkämper H. Entwicklung und heutiger Stand der Lehre von der Pleomorphie und Zyclogenie der Bakterien auf Grund des Literaturstudiums und eigener Untersuchungen. Schriften der Königsberger Gelehrten Ges., **15**, J., H. 3, 1939.
38. Magrassi F., Galli F. e Scalfi L. Sull'isolamento di un ultravirus patogeno in conigli inoculati con filtrati ottenuti da bacille tifici virulenti (contenenti l'antigene Vi). Boll. Ist. Sierot. Milanense, **18**, 709, 1939.
39. Mellon R. The infectivity and virulence of a filterable stage of B. fusiformis. J. Bact., **12**, 279, 1926..
40. Molisch H. Ueber Ultramikroorganismen. Bot. Ztg., I, **66**, 131, 1908.
41. Otto R. u. Munter H. Zum d'Hérelleschen Phänomen. Dtsch. med. Wochenschr., **47**, 1579, 1921.
42. Renaux E. Présence de principes lytiques dans les vieilles cultures de staphylocoques. Bull. Acad. Méd. de Belg., **14**, 655, 1934.
43. Seffert W. Das d'Hérellesche Phänomen als exogene Autolyse der Bakterien. Z. Hyg., **98**, 482, 1922.
44. Wyckoff R. Morphology of Bacterium Shigae cultivated on various media favorable to development of filtrability and life cycle forms. J. Exp. Med., **57**, 165, 1933.

РЕФЕРАТЫ

ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, МОРФОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ

Husain S. S., Hardin M. M. **Influence of carbohydrate and nitrogen sources upon lipid production by certain yeasts.** (Влияние источников углерода и азота на образование жиров некоторыми дрожжами). Food Research, v. 17, pp. 60—66, 1952.

Авторы исследовали накопление жиров в клетках Candida arborea, Torula utilis и Rhodotorula gracilis в зависимости от источников углеродного и азотного питания. Дрожжи культивировались в условиях хорошей аэрации на среде следующего состава: источник углерода — 22,2 г, источник азота — 0,5 г, дрожжевой экстракт — 0,1 г, KH_2PO_4 — 0,8 г, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,7 г, $CaCl_2$ — 0,02 г, $FeSO_4$ — 0,025 г. Вода дистиллированная — 1 л, pH = 4,5—4,8. Продолжительность опытов 72 часа. Испытывались следующие источники азотистого питания: сернокислый аммоний, аспарагин, мочевина, хлористый аммоний, дрожжевой экстракт и бактопептон. В качестве источников углерода брались глюкоза, сахароза, мальтоза, ксилоза, арабиноза, фруктоза. Установлено, что наилучшим источником азота для накопления биомассы является аспарагин, а наилучшим источником углерода — глюкоза. На этой среде Torula utilis накапливает 25,3 г сухой биомассы на 100 г потребленного сахара, Candida arborea — 19,0 г, а Rh. gracilis — 34,3 г. Наилучшим источником азота для жиронакопления являются аспарагин и бактопептон, на которых Torula utilis образует 15,9 и 12,2 г жира, а Candida arborea — 12,4 и 10,0 г на 100 г сухого вещества соответственно. Для Rhodotorula gracilis в этом случае лучшими источниками азота оказались аспарагин и мочевина, на которых эти дрожжи дают 37,1 г жира и 34,9 г жира на 100 г сухого вещества соответственно. Очень высокий выход жира, достигающий 51,1 г на 100 г сухого вещества, был получен у Rh. gracilis при росте на бактопептоне, однако в этом случае слабым было накопление биомассы, достигая всего 10,6 на 100 г потребленной глюкозы. Испытание различных источников углерода проводилось с Rh. gracilis и показало, что только глюкоза обеспечивает одновременно высокий урожай и интенсивное жиронакопление, давая на среде с аспарагином в качестве источника азота 34,3 г биомассы на 100 г потребленного сахара и 37,1 г жира на 100 г сухого веса дрожжей. На мальтозе, ксилозе и арабинозе рост был очень слабым. Высокий выход жира на среде с сахарозой обесценивается сравнительно слабым ростом дрожжей в этом случае. Аналогичные данные получены и для фруктозы, хотя в последнем случае накопление жира достигает 60% от сухого веса накопленной биомассы.

Ю. Карасевич

Herisset A. **Influence de la lumière sur la fixation biologique de l'azote par le Nostoc commune.** (Влияние освещения на биологическую фиксацию азота Nostoc commune) Bull. Soc. Chim. Biol., XXXIV, pp. 532—537, 1952.

Автор исследовал влияние солнечного освещения на биологическую фиксацию атмосферного азота энзиматическими препаратами синезеленой водоросли Nostoc commune, которые изготовлялись путем высушивания и растирания нитей Nostoc. 0,50 г препарата вносилось в 10 мл дестиллированной воды, и полученная суспензия помещалась в колбы Эрленмейера на 250 мл, закрытые притертыми пробками. Установлено, что за 10—12 часов пребывания суспензии на прямом солнечном свету фиксируется от 1,8 до 1,6 мг азота атмосферы, в то время как в темноте фиксация не имеет места. Необходимым условием для фиксации азота является насыщение суспензии углекислотой. При замене углекислоты на глюкозу фиксация не идет. Автор делает вывод, что чистая культура Nostoc commune способна ассимилировать атмосферный азот на свету в присутствии углекислоты. Остается неясным, необходим ли свет для фиксации азота непосредственно или его роль сводится к образованию в процессе фотосинтеза промежуточных соединений, необходимых для синтеза протеинов. Автор указывает, что Nostoc commune являет собой уникальный пример организма, способного ассимилировать белки протоплазмы из N_2 и CO_2.

Ю. Карасевич

Pinsky A., Michaelis M. **The oxidation of nicotinic acid by Pseudomonas fluorescens.** (Окисление никотиновой кислоты Pseudomonas fluorescens). Biochem. Journ., v. 52, pp. 33—38, 1952.

Изучалось окисление никотиновой кислоты суспензией клеток Ps. fluorescens, когда она является единственным источником углерода и азота в среде. Определение потребленного кислорода проводилось в аппарате Варбурга. Установлено, что на окисление моля никотиновой кислоты потребляется 3,9 моля кислорода, причем дыхательный коэффициент возрастает от 0,57 в начале опыта до 0,9 к моменту полного окисления никотиновой кислоты. На основании того, что потребление никотиновой кислоты возможно только в аэробных условиях, авторы относят соответствующий фермент к оксидазам, указывая, что первым этапом в окислении никотиновой кислоты является разрыв пиридинового кольца. Если карбоксил никотиновой кислоты заменить на сульфогруппу, аминогруппу, убрать его или заменить никотиновую кислоту ее амидом, то окисление не идет. Добавление в среду ароматических дикетонов или цистеина тормозит окисление никотиновой кислоты. Авторам не удалось получить активный неклеточный препарат оксидазы никотиновой кислоты.

Ю. Карасевич

Smith D. D., Morrison R. B., Lominsky I. **Isolation of variants of Staph. aureus giving high and low yealds of coagulase.** (Изоляция вариантов Staph. aureus, дающих высокие и низкие выходы коагулазы). J. Path. Bact., v. LXIV, pp. 567—573, 1952.

Авторы установили, что существует корреляция между формой колонии и характером роста в бульоне, с одной стороны, и количеством образуемой коагулазы — с другой, у вариантов Staph. aureus. Варианты, продуцирующие большие количества коагулазы, образуют складчатые колонии при росте на кровяном агаре, при росте же в жидкой среде образуют кольцо и пленочку на поверхности и гранулярный осадок на дне пробирки. Варианты, продуцирующие небольшие количества коагулазы, образуют гладкие колонии при росте на кровяном агаре и равномерно мутят жидкую среду. Кольца и пленки нет. Установлено, что разница в образовании коагулазы не зависит от разницы в скорости роста складчатого и гладкого варианта. Через 48 часов в условиях хорошей аэрации складчатый вариант обгоняет гладкий на 64% по весу и на 12500% по образованию коагулазы. Авторы указывают, что не найдено корреляции между формой колонии и гемолитической способностью Staph. aureus, хотя подчеркивают, что у гладкой формы гемолизис проявляется отчетливее.

Ю. Карасевич

Greene R. A., Blum E. F., de Cora C. T., Fairchild R. B., Kaplan M. T., Landau J. L. and Sharp T. R. **Rapid method for the detection of mobility.** (Быстрый метод определения подвижности). J. Bact., v. 62, No. 3, p. 347, 1951.

Мелкие пробирки (75 × 10 мм), содержащие 1—2 мл полужидкой питательной среды, предварительно нагретые до 37°, засеваются молодыми агаровыми культурами микроорганизма. У изученных авторами культур подвижность определяется через 90—120 минут после засева. Если в такие же нагретые до 37° пробирки, содержащие 1 мл питательного бульона, производится массивный засев из молодых агаровых культур или колоний, то в висячей капле можно наблюдать подвижность уже через 15—30 минут. В некоторых случаях подвижность наблюдается в препаратах из только что засеянных культур.

А. Кривиский

Erikson D. **Temperature/growth relationships of a thermophilic actinomycete, Micromonospora vulgaris.** (Температурно-ростовые отношения термофильного актиномицета Micromonospora vulgaris). J. gen. Microb., v. 6, pp. 286—294, 1952.

Автор изолировал из компоста 3 штамма термофильных микромоноспор, которые хорошо росли при 45—60° в растворе солей Чапека, содержащего 1% растворимого крахмала, 1% кислотного гидролизата казеина, 0,01% дрожжевого автолизата, и на питательном агаре с добавлением крахмала, казеина, горохового экстракта. Изучалось действие высоких температур на прорастание и жизненность спор этих штаммов. Пятиминутное нагревание спор при 85° ускоряет их прорастание, при этом наблюдается более пышный рост. Густота суспензии, а также добавление растворов сахарозы, пептона и разбавленного бульона в качестве суспензорных жидкостей оказывали при кипячении спор защитное действие. Споры в виде равномерной тонкой суспензии

в 1%-ном растворе сахарозы или в очень разбавленном бульоне переносили 100° до 45 минут. Только очень густые водные суспензии спор могли дать подобные же результаты. Споровая масса, взятая вместе с мицелием, переносила сухое нагревание при 100° в течение 150 минут и 106° в течение 5 минут.

А. Космачев

Northrop I. H. **Growth and phage production of lysogenic Bac. megatherium.** (Размножение и образование фага лизогенным штаммом B. megatherium). J. Gen. Physiol., v. 34, pp. 715—735, 1951.

В работе изучалось размножение лизогенного штамма Bac. megatherium и образование им фага в зависимости от различных условий культивирования. Удалось установить, что на питательных средах, благоприятствующих размножению клеток и образованию фага, количество последнего находится в прямой зависимости от интенсивности размножения клеток. Не удалось подобрать такой питательной среды, на которой бы клетки не размножались, а фаг продуцировался. Наоборот, на некоторых средах (например, на синтетической среде, лишенной двухвалентного магния) происходит интенсивное размножение клеток, не сопровождаемое образованием фага.

Sr, Mn, Ca, Mg стимулируют размножение бактерий и образование фага. Ba, Zn, Co не оказывают заметного влияния. Для образования фага необходимы более высокие концентрации солей, чем для размножения бактерий. Отсюда возникает возможность подбора таких условий культивирования, при которых лизогенные культуры не будут продуцировать фаг. На синтетической среде, содержащей набор необходимых аминокислот, Fe, Mg и глюкозу, для образования фага необходимы более низкие концентрации PO_4, чем для размножения клеток. Для образования фага оптимум — 0,01 *M* PO_4, для размножения клеток — 0,1 *M* PO_4. Автор предполагает, что подавление фагообразования повышенными концентрациями PO_4 связано с осаждением солей Mg и Ca. Добавление Mg в питательную среду с повышенным содержанием PO_4 вызывает образование фага.

На питательной среде с повышенным содержанием PO_4 культура может многократно пересеваться без образования фага, но при пересеве такой культуры на наиболее благоприятную для образования фага среду с дрожжевым экстрактом клетки снова начинают продуцировать фаг.

Автор подтверждает данные других исследователей, установивших, что каждая клетка, и даже прогретая при 100° спора лизогенного штамма Bac. megatherium, обладает потенциальной способностью к образованию фага. Не удалось подтвердить данных Вольмана (1935) о возможности освободить внутриклеточный фаг при помощи обработки клетки лизоцимом.

В заключение автор указывает, что образование фага лизогенными клетками во многих отношениях сходно с выработкой адаптивных энзимов. Касаясь вопроса о форме внутриклеточного существования фага, автор не считает доказанной гипотезу о потере фаговой частицей своей индивидуальности внутри клетки, хотя признает, что все наблюдаемые факты наиболее легко объяснимы с этой точки зрения.

А. Кривиский

Siddigi M. S. H. **Origin of the carbon, nitrogen and phosphorus of T_6-bacteriophage.** (Происхождение углерода, азота и фосфора бактериофага T_6). Federation Proc., v. 10, No. 1, part. I, p. 216, 1951.

Штамм кишечной палочки развивался в среде, содержавшей $N^{15}P^{32}$ и карбоксил-C^{14} лизин. После центрифугирования и отмывания бактерии переносились в питательную среду, свободную от изотопов. После 10-кратного увеличения количества бактерий было произведено определение распределения изотопов в клетках. C^{14} содержался только в лизине. Все три изотопа находились в более высокой концентрации в нуклеиновой кислоте и протеине, чем в растворимой в кислоте фракции. После множественного заражения клеток фагом и их лизиса полученный фаг очищался, и в нем также определялось распределение изотопов. Оказалось, что радиоактивный лизин в фаге достигал 1—2% общего C^{14} лизина клеток, но его было в 2 раза больше, чем растворимого в кислоте C^{14} лизина клеток. 14% фагового лизина, образуемого в клетке, должно происходить из бактериального протеина. Бактериальная растворимая в кислоте фракция содержала недостаточное количество N^{15} (только одну треть) и P^{32} (только одну восьмую), чтобы можно было считать, что эта фракция способствует образованию нуклеиновой кислоты фага. 37% азота и 25% фосфора фаговой нуклеиновой кислоты происходят из клеток. Эти результаты соответствуют более ранним наблюдениям, показавшим, что источником нуклеиновой кислоты фага является бактериальная дезоксирибонуклеиновая кислота. Большая часть фагового лизина и протеина синтезируются вновь.

А. Кривиский

Goldwasser E. and Putnam F. W. **Physicochemical properties of bacteriophages. III. Diffusion of Bacteriophages T_6.** (Физико-химические свойства бактериофага. III. Диффузия бактериофага T_6). J. Biol. Chem., v. 190, No. 1, pp. 75—81, 1951.

Диффузионная константа очищенного фага T_6 кишечной палочки измерялась методом определения коэффициента преломления. Значение полученной диффузионной константы (около $0{,}40 \times 10^{-7}$ см^2/сек$^{-1}$ при 20°) согласуется с величинами фаговых частиц, определенных прямыми и непрямыми физическими методами, и соответствует их биологической активности. В противоположность сообщениям, основанным на измерении диффузионной константы биологическими методами, примененный авторами оптический метод исследования не дает оснований к заключению о наличии активной подвижности, гетерогенности и способности к диссоциации фаговых частиц. Авторы считают, что из всех молекулярно-кинетических методов измерение диффузионной константы является наиболее реальным для определения размеров фаговых частиц. Полученные другими авторами (Калмансон и Бронфенбреннер, Полсон и Шеппард, Нортроп) данные о различиях в величинах фаговых частиц одного и того штамма, их активной подвижности и способности к диссоциации связаны с ошибками опыта.

А. Кривиский

Wollman E. L. and Stent G. S. **Studies on activation of T_4 bacteriophage by cofactor.** (Изучение активации кофактором бактериофага T_4). Biochimica et Biophysica acta, v. 6.

I. The degree of activity (Степень активности), No. 2, pp. 292—306, 1950.
II. The mechanism of activation (Механизм активации), No. 2, pp. 307—316, 1950.
III. Condition affecting the activation process (Условия, влияющие на процесс активации) No. 3, pp. 374—383, 1951.

Авторы изучали механизм и условия активации бактериофага T_4 кишечной палочки штамма B адсорбционным кофактором *L*-триптофаном. Титр фага, измеряемый по числу образуемых стерильных пятен на синтетической питательной среде, лишенной триптофана, не превышал 10^5 в 1 мл, в то время как на полноценной питательной среде (Difco-агар) титр того же фага был равен 10^{10}. Снижение титра фага в 100 тысяч раз на синтетической среде зависело от чрезвычайно слабой адсорбируемости фага на поверхности бактериальной клетки в отсутствие кофактора. Добавление триптофана к синтетической среде усиливает адсорбцию фага. Заметная адсорбция отмечается при добавлении 0,25 мг на 1 л питательной среды и нарастает пропорционально концентрации кофактора в пределах от 0,25 до 2 мг на 1 л. При дальнейшем увеличении концентрации до 20 мг на 1 л адсорбция достигает нормальных для полноценной питательной среды величин. Активация кофактором обратима, так как при разведении адсорбционной смеси фаг снова становится неактивным. Авторы вводят понятие о «степени активности» фаговых частиц, определяя ее как отношение величины адсорбции, наблюдаемой при данной концентрации триптофана, к максимальной величине адсорбции на полноценной питательной среде. Степень активности нарастает прямо пропорционально времени и при разведении среды падает экспоненциально времени. Путем трехкратной последовательной адсорбции свежими порциями культуры неадсорбированного при первоначальной адсорбции фага авторы показали гомогенность фагового штамма. Вычисления показывают, что при степени активности, равной 0,03 (1/30 максимальной активности), каждая активируемая фаговая частица соединяется с 200—300 молекулами кофактора.

Авторы предлагают следующую гипотезу механизма активации фага кофактором: фаговые частицы обладают определенными участками (Key-sites), которые находятся в физиологически активном или неактивном состоянии. Степень активности фаговой популяции соответствует количеству физиологически активных участков. Участки приобретают активность после адсорбции на них определенного количества (n) молекул триптофана, часть которых при разведении смеси может быстро десорбироваться и превратить участок в неактивный. На степень инактивации фага при разведении влияет количество молекул кофактора, находящихся во внешней среде; при их достаточном количестве только что инактированные частицы, содержащие $n - 1$ молекул, могут реактивироваться вследствие присоединения к ним единичных молекул триптофана. Снижение температуры реакции соединения фаговых частиц с кофактором значительно понижает активность фага. Особенно резкое влияние температуры отмечается при малых концентрациях кофактора. Снижение активности под влиянием понижения температуры может быть преодолено добавлением большего количества кофактора. Скорость инактивации фага при разведении среды также снижается при низких температурах (5—10°).

Авторы считают, что изученные закономерности активации и инактивации фаговых частиц хорошо объясняются в свете предлагаемой ими гипотезы. Роль кофактора в увеличении адсорбируемости фаговых частиц, по мнению авторов, заключается в образовании соответствующих химических групп, определяющих специфические структуры, или в соответствующих изменениях электростатического заряда, при котором становится возможным прикрепление фага к поверхности бактериальной клетки.

А. Кривиский

Jacob F. **Adaptation enzymatique pendant le développement du bactériophage chez Pseudomonas pyocyanea.** (Ферментативная адаптация в течение периода внутриклеточного развития бактериофага у Pseudomonas pyocyanea). C. R. Ac. Sci. Paris, t. 232, No. 19, pp. 1780—1782, 1952.

Изучалась способность зараженных бактериофагом клеток Ps. pyocyanea к синтезу ферментов.

Окисление глюкозы у этого микроорганизма связано с выработкой адаптивного фермента. Фагочувствительные, множественно зараженные фагом (10 фаговых частиц на 1 клетку), а также лизогенные, облученные ультрафиолетом клетки переносились в синтетическую среду, к которой добавлялась глюкоза в качестве источника углерода. Опыты показали, что в течение первых 50—60 минут клетки не размножаются и находятся в стационарной фазе — периоде выработки адаптивных ферментов, но затем приступают к размножению и лизируются. Так же как и в контроле, на каждую лизированную клетку в среднем образуется 100 фаговых частиц. Таким образом, клетки Ps. pyocyanea, зараженные развивающимся в них бактериофагом, способны к выработке адаптивных ферментов. Изучение дыхания показало, что в течение периода внутриклеточного развития фага клетки синтезируют также и дыхательные ферменты. Интенсивность дыхания, измеряемая в аппарате Варбурга, шла параллельно кривой размножения и быстро падала во время лизиса.

А. Кривиский

Jacob F. **Suppression expérimentale de la croissance des bactéries au cours du dévelopement du bactériophage chez Pseudomonas pyocyanea.** (Экспериментальное подавление размножения клеток Pseudomonas pyocyanea в течение периода внутриклеточного развития бактериофага). C. R. Ac. Sci. Paris, t. 232, No. 17, pp. 1605—1607, 1951.

Заражение кишечных палочек бактериофагом T_2 полностью подавляет размножение клеток. В противоположность этому зараженные фагом фагочувствительные или облученные ультрафиолетом лизогенные клетки Bac. megatherium, Pseud. pyocyanea и Staph. aureus продолжают размножаться в течение латентного (внутриклеточного) периода развития фага. Задачей работы являлось изучение условий, подавляющих размножение зараженных фагом и лизогенных клеток Pseud. pyocyanea.

Опыты показали, что при ограниченном содержании источников утилизируемого клетками углерода (глюкозы) в питательной среде размножение зараженных или облученных ультрафиолетом клеток значительно замедлено по сравнению с контролем или равно нулю. Урожай фага в этих условиях не меняется (в среднем 100 фаговых частиц на 1 клетку), хотя по мере уменьшения содержания глюкозы увеличивается латентный период (период внутриклеточного размножения фага) и продолжительность лизиса. Общее количество необходимой для синтеза фага глюкозы не зависит от ее содержания в питательной среде и равно $4 \cdot 10^9$ молекул на 1 клетку. Для деления бактерий необходимо $2 \cdot 10^{10}$ молекул глюкозы. На основании своих опытов автор приходит к заключению, что при недостатке глюкозы вся имеющаяся в наличии глюкоза в первую очередь идет на синтез бактериофага. Только при более высоком содержании глюкозы в питательной среде она утилизируется бактериями также и для собственного синтеза (размножения).

А. Кривиский

КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ

В. О. Таусон. **Основные положения растительной биоэнергетики.** Изд. АН СССР, М.—Л., 1950.

Почти одновременно вышли три книги: «Метаболизм бактерий» М. Стефенсон (1949, русский перевод 1951 г.), «Химическая деятельность грибов» Д. Фостера (1949, русский перевод 1950 г.), и «Основные положения растительной биоэнергетики» В. О. Таусон (1950).

Все эти книги посвящены одному вопросу — обмену веществ у микроорганизмов. Совершенно по-разному рассматривается этот вопрос у иностранных авторов и у В. О. Таусона.

Первые две книги являются сводками современных сведений об обмене веществ у бактерий и у грибов. Третья — сводка собственных работ Таусона. В двух первых книгах мы не найдем каких-нибудь новых идей. В них много новых фактов, но нет ничего принципиально нового, обобщающего. В книге же Таусона — совершенно новые, оригинальные взгляды на обмен веществ.

Автором дана стройная теория энергетических соотношений при обмене веществ. Теория эта — не умозрительное, логическое построение,— она вытекает из экспериментальных фактов. Поэтому нельзя пройти мимо работ Таусона.

Характерно, что в двух упомянутых книгах иностранных авторов нет ни слова о работах Таусона, хотя его теория была высказана 15 лет назад. Может быть, нет оснований удивляться тому, что за рубежом игнорируют русскую науку. Это бывало в старые годы, это бывает очень часто и теперь. Но и у нас взгляды Таусона, по-видимому, мало известны. Об этом свидетельствует хотя бы то, что в предисловии Г. Ф. Гаузе к русскому изданию книги Фостера, где вопросам биоэнергетики отведено немалое место, также нет упоминания о работах Таусона.

Поэтому нелишним будет сделать обзор работ Таусона, чтобы подчеркнуть то важное, что в них есть.

Первая тема, которая была предложена Таусону при окончании университета, касалась разрушения парафина микроорганизмами. Ему был дан объект — Aspergillus flavus, выделенный случайно при работе с растениями. Горшки с землей покрывались слоем парафина; на нем обнаружился гриб, разрушающий парафин. Этот гриб дальше всю жизнь был постоянным объектом исследования Таусона при решении разнообразных вопросов биоэнергетики.

В первое время своей научной работы Таусон занимался изучением различных аэробных микроорганизмов, разрушающих углеводороды. Им выделены грибы и бактерии, разрушающие углеводороды с прямой цепью углеродных атомов и циклические углеводороды — фенантрен, нафталин, воск, смолы, нефть. Он описал новые виды бактерий: Bac. naphtalinicus, Bac. phenantrenicus и т. д.

Далее Таусон перешел к исследованию анаэробных разрушителей углеводородов и впервые выделил десульфурирующих бактерий, использующих нефть в качестве источника углерода и энергии. В процессе этих исследований он впервые заинтересовался вопросами энергетики. Он обратил внимание на следующее обстоятельство: для того чтобы шел процесс десульфуризации необходимо, чтобы количество энергии, освобождающейся при окислении органического вещества кислородом сульфатов, было больше, чем количество энергии, затрачиваемое на отнятие от сульфатов кислорода, необходимого для этого окисления. Не всякое органическое вещество может удовлетворить этому требованию.

Расчет позволяет предсказать, какие углеводороды могут быть использованы в процессе десульфуризации и какие не могут. На основании таких расчетов Таусон оказался в состоянии предсказать, какие нефти могут принять участие в процессе десульфуризации и какие изменения при этом произойдут в составе нефти.

Далее (с 1933 г.) Таусон перешел к детальному изучению энергетических соотношений при развитии Asp. flavus на различных субстратах.

В основу его методики был положен метод определения запаса энергии в исходном веществе, в теле организма и в продуктах обмена. Запас энергии определялся в калориях, полученных при сжигании материала в калориметрической бомбе в атмосфере кислорода при 25 атм. Эту методику он применял и во всей своей дальнейшей работе.

Для математических расчетов удобно наблюдать развитие культуры, когда оно протекает не по S-образной кривой, как обычно, а по прямой. Этого можно достигнуть, создавая постоянные, неизменные условия. Таусон применил здесь другой методический прием, лёгший в основу всей его дальнейшей работы по энергетике. Он

выращивал микроорганизмы при постоянном закапывании питательных веществ по ходу развития культуры. При этом он мог получить по желанию любой наклон прямой развития. Такой способ выращивания он назвал «методом замедленных культур».

Объектом исследования во всех работах был Asp. flavus и другие грибы, иногда актиномицеты.

На основании полученных данных Таусон вычислял целый ряд коэффициентов — экономический коэффициент, коэффициент использования энергии, коэффициент основного обмена. Для расчетов им созданы специальные, довольно сложные математические формулы.

1. Экономический коэффициент. Это отношение количества образовавшегося сухого вещества тела к количеству израсходованного питательного вещества.

2. Коэффициент использования углерода — это отношение углерода, содержащегося в новообразовавшихся веществах тела, к количеству углерода, находившегося в исчезнувшем субстрате.

3. Коэффициент использования энергии — это отношение количества энергии, запасенной в теле организма, к энергии потребленного питательного вещества.

Первый вопрос, который Таусон поставил перед собой,— это вопрос об основном обмене. Что это такое?

Основным свойством живой плазмы является то, что, в отличие от мертвого вещества, в ней непрерывно происходит процесс распада и воссоздания за счет продуктов распада. Согласно II закону термодинамики при этом часть энергии рассеивается.

Для того чтобы не происходило убыли вещества, необходим постоянный приток питательного вещества извне. Такой приток питательного вещества без прироста массы и называется «основным обменом» или «затратами на содержание». Действительно ли существует такой основной обмен?

Экспериментально величину основного обмена можно найти вблизи точки перегиба кривой развития, т. е. тогда, когда прирост живого вещества почти не происходит и поглощение питательного вещества идет на покрытие основного обмена.

Эта величина может быть вычислена по особому уравнению, предложенному Таусоном. Ему удалось доказать, что действительно у грибов (Asp. flavus) существует такой основной обмен, что при использовании углеводов и углеводородов на основной обмен используется различное количество энергии.

Отсюда Таусон перешел к другому, очень важному вопросу биоэнергетики; в какой степени используется энергия, заключенная в том или ином веществе?

В парафине заключено много энергии. При сжигании его выделяется больше энергии, чем при сжигании глюкозы, которая является более окисленным веществом. Одинаково ли продуктивно может использоваться энергия, заключенная в парафине, и энергия, заключенная в сахаре?

Оказалось, что неодинаково. Энергия, заключенная в более окисленном сахаре, используется более продуктивно, чем энергия, заключенная в сильно восстановленном парафине.

Это было известно и раньше. Объяснялось это так. Допускают, что для удовлетворения потребностей организмов в энергии могут использоваться только углеводы; все другие вещества сначала превращаются в углеводы, и только потом могут использоваться. Поэтому энергия, выделяемая при превращении углеводородов до углеводов, не используется и теряется для организма. Это явление носит название закона Теруана. Отсюда ясно, почему энергия, заключенная в парафине, используется менее продуктивно, чем энергия, заключенная в сахаре.

Таусон дал этому факту более общее толкование.

Самый восстановленный углерод, встречающийся в органических соединениях,— CH_3. Он несет 4 электрона. При окислении, т. е. при отдаче одного электрона, выделяется некоторое небольшое количество энергии — 44 ккал и образуется группа CH_2OH. Отдача следующего электрона дает немного больше энергии — 49 ккал и группа CH_2OH переходит в CHO. Превращение CHO в COOH дает сразу гораздо больше энергии — 68 ккал. Так же и превращение COOH в CO_2 — 60—62 ккал.

Таким образом, энергия, выделяемая при окислении органических веществ, неоднородна.

Таусон предполагает, что два первых окисления (с низкой напряженностью энергии) не используются гетеротрофами и тепло этого окисления рассеивается в окружающей среде. Организм может использовать только 3-й и 4-й вид окисления (с высокой напряженностью энергии). Только при таком допущении можно объяснить, почему вещества с большим количеством энергии, с CH_3- и CH_2-группами используются менее эффективно, чем вещества полуокисленные, как глюкоза.

Таким образом, закон Теруана это только частный случай более общего энергетического закона.

Энергия, выделяющаяся при окислении органических веществ, неоднородна. Ее использование зависит от строения вещества.

Далее Таусон перешел к третьему, очень важному вопросу, имевшему исключительное значение для всей его дальнейшей работы: могут ли гетеротрофы восстанавливать карбоксильную группу?

На восстановление COOH в CHO надо столько же энергии, сколько на восста-

новление CO_2 в COOH — 68 ккал, т. е. очень большое количество энергии, больше, чем на восстановление альдегидных и спиртовых групп. Если организмы восстанавливают карбоксилы, то они на это должны затрачивать очень большое количество энергии. Тогда, для того чтобы синтезировать вещества тела с CH_2- и CH_3-группами из веществ, содержащих COOH-группы, надо получить извне большое количество энергии.

До сих пор считают, что эта энергия получается микроорганизмами из энергетических процессов — сжигания вещества до CO_2 и воды (дыхания) и из брожения.

Таусон начал изучать коэффициенты использования целого ряда органических кислот. Он брал двухосновные жирные кислоты, оксикислоты и т. д. и неоднократно возвращался к этому вопросу. На основании расчетов он пришел к выводу, что карбоксилы не восстанавливаются гетеротрофами, а, наоборот, окисляются до CO_2. Отсюда он сделал вывод кардинального значения: при синтезе из кислот более длинных углеродных цепочек происходит окисление COOH до CO_2. При этом выделяется большое количество энергии и синтез получается экзотермический.

Таким путем из органических веществ могут быть синтезированы вещества, запас энергии в которых больше, чем в исходном веществе, без траты энергии. При этом, конечно, общее количество энергии в синтезированном веществе меньше, чем в исходном, так как количество синтезированного вещества невелико. Такой синтез обычно обозначают как восстановление, а он на самом деле происходит путем окисления [COOH до CO_2].

Это открытие является основой для всей теории об экзотермичности синтезов, разработке которой посвящено 10 последних лет работы Таусона.

Обычно обмен веществ представляют себе следующим образом.

Происходит процесс дыхания, т. е. окисление органического вещества до CO_2 и H_2O. Энергия, выделенная при этом, тратится на синтетические восстановительные процессы.

Долгое время представляли себе, что это две совершенно обособленные группы процессов, и не было ясно, как передается энергия от дыхания на синтез. Однако в последние годы установилось такое мнение, что это не изолированные процессы. Они между собой материально связаны. Это — сложная система неразрывно связанных сопряженных окислительно-восстановительных реакций. Обмен энергии происходит между отдельными звеньями непрерывной цепи сопряженных окислительно-восстановительных процессов.

Однако это не меняет того установившегося мнения, что синтез более восстановленных веществ из менее восстановленных происходит с затратой энергии.

Таусон возражает против этих твердо установившихся положений. В доказательство правильности своей точки зрения он ставит опыты над грибами. И получает целый ряд доказательств в пользу своего взгляда.

1. Оказывается, что если выращивать грибы на различных органических кислотах методом замедленных культур и определить у них коэффициент использования углерода и энергии, то можно увидеть следующее. Если сопоставить количество энергии, которая могла бы выделиться при окислении разных субстратов до CO_2 (зная, сколько CO_2 выделилось), и коэффициент использования углерода и энергии в этих субстратах, то оказывается, что нет такого соответствия, которое должно было бы быть, если бы использование субстрата на синтез сопровождалось определенной затратой части его для окисления до CO_2.

2. Если бы дыхание было источником энергии, то был бы параллелизм между коэффициентом использования энергии и коэффициентом использования углерода, между тем опыт показывает, что такого параллелизма нет.

3. Если дыхание есть источник энергии для синтеза, то энергия окисленного вещества должна была бы накапливаться в теле. Так ли это? Это не так. Определяя в калориметрической бомбе энергию сгорания субстрата и мицелия, Таусон показывает, что израсходованное вещество содержит гораздо больше энергии, чем запасено в мицелии. Например:

потреблено глюкозы на 9459 г/кал,
запасено в мицелии 4980 г/кал,
выделилось фактически (разность) 4479 г/кал,
выделилось при дыхании (по потр. O_2) 4116 г/кал.

Следовательно, энергия, освобождающаяся при дыхании, совершенно не запасается, а вся рассеивается.

4. Если представить себе синтез углеводов, жиров и белков из янтарной кислоты, приняв, что карбоксилы при этом не восстанавливаются, а окисляются до CO_2, то можно, подсчитав энергию каждой реакции, увидеть, что для такого превращения не только не требуется энергия, а наоборот, она выделяется. И самое главное: если при этом подсчитать, каковы будут коэффициенты использования энергии и углерода, то вычисленные величины совпадают с тем, что Таусон определил из опыта. Отсюда он заключает, что его представления действительно правильны.

Если это так, то для дыхания не остается места. Выделение CO_2 происходит вследствие перестройки углеродных цепей при синтезе и окислении COOH. Энергия, выделяющаяся при этом, никуда не используется, так как она не нужна и выделяется в виде тепла. Таким образом, выделение энергии и выброс CO_2 являются не усло-

вием синтеза, а следствием его. Дыхательный процесс не является источником энергии для реакций синтеза. Его просто не существует.

Разнородные явления: поглощение кислорода, выделение CO_2 и освобождение энергии — это прямое и неизбежное следствие экзотермически происходящего синтеза веществ клетки при перестройке углеродных цепей питательных веществ.

Таким образом, нет особой группы экзотермических реакций, дающих энергию для других процессов, а есть единая система перестройки исходных питательных веществ, экзотермично приводящая к синтезу веществ клетки.

Часть синтезированных веществ замещает распавшиеся части (основной обмен), а другая часть дает материал для увеличения количества живого вещества.

Суммарные формулы многих синтетических реакций выглядят таким образом, будто бы часть субстрата окислилась до конца, а часть дала более восстановленное вещество. На самом же деле, ни одна молекула исходного вещества не окислилась до конца, а каждая отдала некоторое количество CO_2, и получилось меньшее количество более восстановленного вещества.

Однако есть такие случаи, когда при синтезе должны произойти такие реакции, когда действительно должна быть затрачена энергия. Это те случаи, когда, например, из углеводов, где все атомы частично окислены, нужно получить CH_3-группы. Или иногда, может быть, необходимо прямое присоединение водорода по месту двойной связи. Как же тогда быть, если стоять на точке зрения экзотермичности синтеза?

Здесь Таусон находит такой выход из положения: подобного рода восстановление происходит за счет воды при реакции Каницарро. Если реакцию Каницарро рассматривать в целом (сопряженное окисление — восстановление), то она всегда экзотермична.

У ненасыщенных углеводородов гидрирование в реакции Каницарро не происходит. Поэтому Таусон считает, что в настоящее время не происходит биологического гидрирования ненасыщенных углеводородов. Растения могут накапливать только ненасыщенные — каучук, терпены, каротины.

Способностью гидрировать ненасыщенные углеводороды и превращать их в насыщенные обладали вымершие ныне микроорганизмы. В процессе эволюции эта способность была утрачена.

При внутримолекулярной реакции Каницарро первично-спиртовая группа может превращаться в метильную и образуется ацетальдегид. Все ли организмы способны осуществлять эту реакцию? Очень многие, но не все.

Организмы, разрушающие циклические соединения, неспособны использовать углеводы. Таусон объясняет это тем, что они неспособны образовывать метильную группу из более окисленных групп — неспособны к внутримолекулярной реакции Каницарро. Те организмы, которые неспособны развиваться за счет углеводов, неспособны к этой реакции.

Принцип экзотермичности подтверждает и эволюция. Сложные синтезы могли возникнуть только постольку, поскольку они могут протекать самопроизвольно.

Ацетальдегид может возникнуть из карбидов:

$$CaC_2 + 2\,H_2O \rightarrow CH{\equiv}CH + Ca(OH)_2$$

$$CH{\equiv}CH + 2\,H_2O \rightarrow CH_3CH\begin{matrix}\diagup OH\\ \diagdown OH\end{matrix} \rightarrow CH_3CHO + H_2O + 33\ \text{ккал}.$$

Таким образом, ацетальдегид — основа жизни от древних до наших дней. Ацетальдегид — это центральное соединение обмена веществ. Из него можно построить все классы веществ — белки, жиры, углеводы.

Как же Таусон рассматривает брожение? На этот счет у него есть некоторые высказывания: он полагает, что многие вещества, выделяемые в среду,— кислоты и т. д., которые обычно рассматривают как продукты диссимиляции, на самом деле стоят на пути превращения субстрата в вещество клетки.

Брожение — это есть неудавшийся синтез.

Синтез может происходить лишь при определенных условиях. Если этих условий нет, то синтез нарушается и накапливаются продукты стабилизации.

Например: дрожжи при недостатке O_2 образуют спирт — ацетальдегид стабилизуется в виде спирта, а при доступе O_2 синтезируют массу тела.

Таусон думает, что и все другие брожения — неудавшиеся синтезы.

Интересно отметить, что в книге Фостера, вышедшей в 1949 г., приведена точно такая же теория образования кислот у грибов.

Фостер считает, что грибы в природе приспособлены строить свое тело очень экономично, так как в почве они всегда встречаются с очень ограниченным количеством органических веществ.

В лаборатории же, на сахаристых субстратах они попадают в совершенно непривычные для них условия (отсюда их необычайная биохимическая изменчивость).

Системы ферментов, приспособленные для первоначального захвата вещества, действуют исправно, а системы, синтезирующие вещество тела, не справляются, и

происходит стабилизация продуктов ассимиляции в виде органических кислот и других продуктов грибного брожения.

Работы Таусона, где сформулирована его точка зрения, выполнены в 1940 г. и ранее. Однако Фостер, разбирая вопросы энергетики у грибов, ни одним словом не упоминает этих работ Таусона. Это характерный пример полного пренебрежения европейскими и особенно русскими работами со стороны американских авторов.

Таусон отмечает, что пока очень большое внимание уделяется изучению диссимиляции и очень мало — ассимиляции, особенно при изучении разного рода брожений. Микробиологи часто стараются не замечать процессов синтеза, умышленно угнетая их, чтобы они «не мешали» изучению обмена веществ. Это очень односторонний метод, который не может раскрыть всей сути обмена веществ. Таусон в своих работах изучал именно синтетическую деятельность.

Благодаря такому забвению синтезов и возникали представления о дыхании как об энергетическом процессе. Эта точка зрения подкреплялась определениями дыхательных коэффициентов, которые действительно свидетельствовали о том, что какая-то часть вещества сжигается до конца. Большинство опытов по определению дыхательных коэффициентов велось в таких условиях, когда синтез сознательно выключался, между тем в растущих культурах дыхательные коэффициенты совсем не те — они всегда отличаются от дыхательных коэффициентов, характерных для полного сгорания.

Как же примирить взгляд Таусона на невозможность восстановления COOH с известными фактами об ассимиляции CO_2?

Таусон считает, что фиксация CO_2 — это превращение CO_2 только в COOH; дальнейшего восстановления карбоксила не происходит.

Мы видим, что Таусон построил очень стройную и логичную систему обмена веществ. Всю свою работу он посвятил изысканию все новых и новых доказательств и подтверждений. Очень оригинальные его мысли действительно опираются на эксперимент.

* * *

Как же можно отнестись к этой теории?

Прежде всего основная методика определения энергии не является безупречной. Определение энергии вещества по сжиганию — это очень грубый метод, и нет полной уверенности в том, что организм может в такой же мере использовать энергию веществ, в какой она выделяется при сжигании.

Таусон задумывался над этим и пришел к выводу, что для гриба-аэроба, повидимому, можно пользоваться этим методом. Однако, когда мы перейдем к анаэробам, то тут калориметрический метод не применим, так как в анаэробных условиях организм может использовать гораздо меньше энергии, чем при окислении. Поэтому его теория может быть применима к таким резко аэробным организмам, как грибы, но совершенно невозможно переносить его данные на мир бактерий — на анаэробных и факультативно-анаэробных. Его представления о сущности брожения, как неудавшегося синтеза, можно относить только к грибным брожениям, но не к бактериальным.

Основной факт, из которого исходил Таусон при построении своей теории, это неспособность микроорганизмов восстанавливать карбоксил. Новейшие исследования с применением меченых атомов не опровергают этого, когда дело касается плесневых грибов. Действительно, работы Фостера с CO_2, меченой радиоактивным углеродом, показали, что углерод углекислоты переходит только в карбоксильные группы лимонной кислоты, но не попадает в более восстановленные группы. Что же касается бактерий, то в этом случае работы с мечеными атомами показали, что карбоксильные группы могут восстанавливаться. У маслянокислых и ацетоно-бутиловых бактерий можно наблюдать, что добавленная к культуре уксусная кислота $CH_3C^{13}OOH$ превращается в бутиловый спирт, у которого все углеродные атомы более восстановлены, чем в карбоксиле (Вуд и др., 1945, цит. по Стефенсон).

Это также является основанием для того, чтобы считать взгляды Таусона неприложимыми к анаэробным бактериальным микроорганизмам.

Трудно увязать взгляды Таусона с современным учением о макроэргических связях, о том, что энергия при окислительных процессах может быть запасена в аденозинтрифосфате и затем может расходоваться на нужды организма.

Учение о макроэргических связях как раз восполняет пробел в наших знаниях о связи между энергетическими и конструктивным обменом.

Это очень хорошо и детально разработано на гликолизе в мышце и на спиртовом брожении. Эти данные стоят в полном противоречии с точкой зрения Таусона. Согласно его взглядам, в таких резервуарах энергии нет нужды.

Единственный аргумент, который приводит Таусон, это то, что никто еще не доказал, что энергия богатых связей используется на синтез. Но это еще не значит, что подобные доказательства не появятся.

Может быть, можно согласиться с тем, что грибам нет нужды запасать энергию в макроэргических связях для некоторых конструктивных целей. Но энергия может быть необходима и для других жизненных функций или для синтеза каких-нибудь специальных соединений живого тела.

Таким образом, теория Таусона об экзотермическом синтезе, повидимому, не имеет такого широкого приложения ко всем гетеротрофам, которая представлялась ее автору.

Она приложима только к грибам (может быть, высшим растениям в некоторых случаях) и то в ограниченной мере.

Однако она не может быть скинута со счета. Есть факты, свидетельствующие о том, что в некоторых специальных случаях теория Таусона оправдывается практикой. В предисловии к книге Таусона И. Я. Веселов отмечает, что при солодоращении расчеты теплоотдачи при дыхании зерна в гораздо большей степени сходятся с практикой, если они исходят из представлений об экзотермичности синтеза.

Отдельные детали являются спорными. Так, например, трудно согласиться с представлениями Таусона о том, что не может происходить гидрирование ненасыщенных соединений, когда мы знаем, с какой легкостью ненасыщенное соединение — фумаровая кислота — превращается в янтарную.

С другой стороны, принципиальные соображения находят подтверждение со стороны других авторов, работавших совершенно независимо.

Так, например, в обзоре по ассимиляции у микробов, напечатанном в 1946 г., Клифтон (C. E. Clifton, Microbial assimilation, Adv. in Enzym., v. 6, 265—308) еще довольно робко высказывает те же мысли, которые были высказаны Таусоном еще в 1935 г., а именно, что для ассимиляции важен не запас энергии, а строение группировок, и что процессы распада имеют большее значение как поставщики материала для синтеза, чем как источники энергии. Он также представляет себе ацетальдегид как центральное соединение в обмене веществ, как представлял себе и Таусон еще в 1940 г.

Клифтон говорит, что выделяющаяся при распаде энергия является побочным, неиспользуемым продуктом, так же как CO_2 и H_2O, что совершенно ясно было сформулировано Таусоном еще в 1939 г.

Клифтон далек от той стройной теории, которую дал Таусон, но независимо от Таусона, работы которого он не упоминает, он по существу приходит к сходным выводам.

Все это заставляет нас серьезно задуматься над работами Таусона, оценить его теорию, опирающуюся на большой экспериментальный материал, найти ей место в ряде современных представлений об обмене веществ.

И. Л. Работнова

БИБЛИОГРАФИЯ ИНОСТРАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ (1950—1951)

(*Продолжение, см. т. XXI, № 6*)

II. СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

а. Почвенная микробиология. Бактериальные удобрения

Abdel-Ghaffar A. S. and Allen O. N. The effects of certain microorganisms on the growth and function of rhizobia. Fourth Int. Congr. of Soil Sci., Amsterdam, 1950, Transact, vol. 3, p. 93—96.

Ajello L. and Zeidberg L. B. Isolation of Histoplasma capsulatum and Allescheria Boydii from soil. Science, 1951, vol. 113, No. 2945, p. 662—663.

Amer F. N. and Bartholomew W. V. Influence of oxygen concentration in soil air on nitrification. Soil Sci., 1951, vol. 71, No, 3, p. 215—219.

Barnes T. W. The formation of nitrates in soil following various crop rotations. J. Agr. Sci., 1950, vol. 40, parts 1—2, p. 166—168.

Bartholomew W. V. and Clark F. E. Nitrogen tranformations in soil in relation to the rhizosphere microflora. Fourth Int. Congr of Soil Sci., Amsterdam, 1950, Transact., vol. 2, p. 112—113.

Bhaduri S. N. Influence of the numbers of Rhizobium supplied on the subsequent nodulation of the legume host plant. Ann. Bot., N. S., 1951, vol. 15, No, 58, p., 209—217.

Bliss D. E. The destruction of Armillaria mellea in citrus soils. Phytopath., 1951, vol. 41, No. 8, p. 665—683.

Boischot P. et Sylvestre G. Fixation de l'azote nitrique par les microorganismes décomposant les pailles de céréales dans le sol. C. R. Ac. Sci., Paris, 1951, t. 232, No. 24, p. 2253—2255.

Bond G. Symbiosis of leguminous plants and nodule bacteria. III. Observations on the growth of soya bean in water culture. Ann. Bot., N. S., 1950, vol. 14, No, 54, p. 245—261.

Bond G. Symbiosis of leguminous plants and nodule bacteria. IV. The importance of the oxygen factor in nodule formation and function. Ann. Bot., N. S., 1950, vol. 15, No. 57, p. 95—108.

Bond G. and Mc Gonagle M. P. The,effectiveness of strains of the nodule organism when associated with different species of clover. Ann. Appl. Biol., 1951, vol. 38, No. 1, p. 246—251.

Bonnier Ch. Adaptation à Soja hispida M., d'une race autochtone de Rhiozbium. Différenciation sérologique de cette souche. C. R. Soc. Biol., 1951, t. 145, No 5—6, 469—471.

Booer Y. R. The action of mercury as a soil fungicide. Ann. Appl. Biol., 1951, vol. 38, No. 2, p. 334—347.

Boswell Y. C. and Sheldon T. The microbiology of acid soils. 2. Ringinlow bog, near Sheffield. New Phytopatholog., 1951, vol. 50, No. 2, p. 172—178.

Broadbent F. E. Denitrification in some California soils. Soil Sci., 1951, vol. 72, No. 2, p. 129—137.

Burges A. The downward movement of fungal spores in sandy soil. Transact. Brit. Mycolog. Soc., 1950, vol. 33, parts 1/2, p. 142—147.

Clark F. E. The use of ethylene for soil sterilization. Fourth Int. Congr. Soil Sci., 1950, Amsterdam, Transact., vol. I, p. 204—205.

Clark F. E. Bacteria in the soil. Exper., 1951, vol. 7, fasc. 3, p. 78—80.

Clark F. E. and Carr P. H. Motility and flagellation of the soil Corynebacteria. J. Bacter., 1951, vol. 62, No. 1, p. 1—6.

Claude D. Les microbes du sol. (Рецензия на работу Виноградского «Microbiologie du sol».) La Nature, 1950, No. 3183, p. 212—215.

Clowers F. A. L. The structure of mycorrhizal roots of Fagus sylvatica. New Phytolog., 1951, vol. 50, No. 1, p. 1—16.

Cohen C. An examination of the methods used for isolating soil fungi. S. African J. Sci., 1950, vol. 46, No. 10, p. 281—283.

Czekałowski T. W., Dolby D. E., Johnstone K. I., La Touche C. T. Observations on the destruction of bacteria by a soil amoeba. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 1, p. VII.

Daste Ph. L'action sur les Azotobacter des racines de Triticum sphaerococcum. C. R. Soc. Biol., 1951, t. 145, No. 5—6, p. 326—328.

Diener Th. Über die Bedingungen der Wurzelknöllchenbildung bei Pisum sativum L. Phytopath. Ztschr., 1950, Bd. 16, Nr. 2, S. 129—170.

Dominik T. Badania mykotrofizmu dzikich grusz na terenie Polski z uwzględnieniem

warunków bioekologicznych. Acta soc. botan. Poloniae, 1949—50, vol. 20, No. I, p. 255—303.
Dominik T. Modrzew w lasach czerniejewskich pod Gnieznem i dynamika rozwojowa jego mykorhizy. Acta soc. botan. Poloniae, 1949—50, vol. 20, No., 1, p. 305—330.
Ferguson J. and Wilhelm S. Soil fumigation against Verticillium albo-atrum. Phytopath., 1951, vol. 41, No. 10, p. 939.
Fogg G. E. Studies on nitrogen fixation by blue-green algae. 2. Nitrogen fixation by Mastigocladus laminosus Cohn. J. exp. Bot., 1951, vol. 2, No. 4, p. 117—120.
Garret S. D. Ecological groups of soil fungi: a survey of substrate relationship. New Phytolog., 1951, vol. 50, No. 2, p. 149—166.
Garrett S. D. Ecology of the root inhabiting fungi. Biol. rev., 1950, vol. 25, No. 2, p. 220—254.
Gerretsen F. C. Microbiological tranformation of nitrogen and its influence on nitrogen availability in the soil. Fourth Inst. Congr. of Soil Sci., Amesterdam, 1950, Transact., vol. 2, p. 114—117.
Gleen H. Microbiological oxidation of ammonium and thiocyanate ions in soil. Nature, London, 1951, vol. 168, No. 4264, p. 117—118.
Gleen H. Some aspects of the metabolism of a new group of iron-oxidizing micro-organism in soil. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 3, p. XV.
Gottlieb D. and Siminoff P. The rôle of antibiotics in soil. Phytopath., 1950, vol. 40, No. 1, p. II.
Halleck F. E. and Cochrane V. W. The effect of fungistatic agents on the bacterial flora of the rhizosphere. Phytopath., 1950, vol. 40, No. 8, p. 715—718.
Hawker L. E. and Fraymouth J. The morphology and life histories of the organisms inhabiting the root nodules of certain non-leguminous plants. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 1, p. VI.
Hawker L. E. and Fraymouth J. A re-investigation of the root-nodules of species of Elaeagnus, Hippophae, Alnus and Myrica, with special reference to the morphology and life histrories of the causative organisms. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 2, p. 369—386.
Hazen E. L. and Brown R. Two antifungal agents produced by a soil actinomycete. Science, 1950, vol. 112, No. 2911, p. 423.
Hopf M. Untersuchungen über die natürliche Mikroflora des Bodens. Archiv Mikrobiol., 1950, Bd. 14, H. 4, S. 661—677.
Hoppe P. E. and Middleton J. T. Pathogenicity and occurrence in Wisconsin soil of Pythium species which cause seedling disease in corn. Phytopath., 1950, vol. 40, No. 1, p. 13.
Hunt G. E. A comparative chromatographic survey of the amino acids in five species of legume roots and nodules. Amer. J. Bot., 1951, vol. 38, No. 6, p. 452—459.
Jordan D. C. and Garrard E. H. Studies on the legume root nodule bacteria. I. Detection of effective and ineffective strains. Canad. J. Bot., 1951, vol. 29, No. 4, p. 360—372.
Kandler O. Über den Einfluss von Bodenbakterien und deren Filtraten auf das Wachstum in vitro kultivierter Wurzeln. Archiv Mikrobiol., 1951, Bd. 15, H. 3, S. 430—438.
Karraker P. E., Bortner C. E. and Fergus E. N. Nitrogen balance in lysimeters as affected by growing Kentucky bluegrass and certain legumes separately and together. Bull. Kentuckky Agric. Expt. Sta. 1950, No. 557, p. 1—6.
Kaufmann J. Contribution à l'étude du mécanisme de la réduction des nitrates en nitrites par quelques germes isolés du sol. Mise au point d'un dosage biologique des nitrates. Ann. Inst. Pasteur, Paris,, 1951, t. 81, No. 3, p. 293—299.
Kauffman J. et Toussaint P. Un nouveau germe fixateur de l'azote atmosphérique: Azotobacter lacticogenes. C. R. A. Sci., Paris, 1951, t. 233, No. 3, p. 710—711.
Kelley A. P. Mycotrophy in plants. Lectures on the biology of Mycorrhizae and related structures. Waltham, Mass., Chronica Botanica, 1950, XIV, 223 pp.
Khan A. M. Temperature and the development of Rhizoctonia solani on legumes. Phytopath., 1950, vol. 40, No. p. 14.
Kostecka O. Wpływ wyciągów z gleby na roswój Azotobacter chroococcum Beij. Acta soc. botan. Poloniae, 1949—1950, vol. 20, No. 1, p. 169—200.
Krehl-Nieffer R. M. Verbreitung und Physiologie mikroskopischer Bodenpilze. Eine mykologische Studie als Beitrag zur Mikroflora der Umgebung Stuttgarts. Archiv Mikrobiol., 1951, Bd. 15, H. 3, S. 389—402.
Küster E. Untersuchungen über die Bildung und Zersetzung von Humusstoffen durch Mikroorganismen. Archiv Mikrobiol., 1950, Bd. 15, H. 1, S. 1—12.
Lachance R. O. Antagonisme des microorganismes du sol envers le Colletotrichum linicola agent de l'anthracnose. Canad. J. Bot., 1951, vol. 29, No. 4, p. 438—449.
Landerkin G. B., Smith J. R. G. and Lochhead A. G. A study of the antibiotic activity of actinomycetes from soil of Northern Canada. Canad. J. Res., Sect. C., 1950, vol. 28, No. 6, p. 690—698.

Laudelout H. and Meyer J. Temperature characteristics of the microflora of central african soils. Nature, 1951, vol. 168, No. 4279, p. 791.
Lees H. The nitrifying organisms. Brewers' Guild J., 1951, vol. 37, No. 436, p. 81—88.
Lees H. Studies in the nitrifying organisms. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 3, p. XVII—XVIII.
Lochhead A. G. and Thexton R. H. Vitamin B_{12} as a growth factor for soil bacteria. Nature, London, 1951, vol. 167, No. 4260, p. 1034.
McCalla T. M. Microorganisms and soil structure. Trans. Kansas Acad. Sci., 1950, vol. 53, No. 1, p. 91—100.
McCalla T. M. and Duley F. I. Stubble mulch studies. III. Influence of soil microorganisms and crop residues on the germination, growth and direction of root growth of corn seedlings. Soil Sci. Soc. Amer., Proc., 1950, vol. 14, p. 196—199.
Marcelli E. Effetti sulla microflora del terreno del 2,4-D. ad altedosi. Tabaccs, 1950, vol. 54, No. 616/617, p. 370—374.
Melin E. and Nilsson H. Transfer of radioactive phosphorus to pine seedlings by mycorrhizal hyphae. Physiol. plantarum, 1950, vol. 3, fasc. I, p. 88—92.
Miller J. J., Peers D. J. and Neal R. W. A comparison of the effects of several concentrations of oxgall in platings of soil fungi. Canad. J. Bot., 1951, vol. 29, No. 1, p. 26—31.
Morse R. E., Powers J. J. and Williams C. J. Spores of Clostridium botulinum in Georgia soil. Food Res., 1950, vol. 15, No. 6, p. 454—458.
Mostafa M. A. and Mahmoud M. Z. Bacterial isolates from root nodules of Zygophyllaceae. Nature, London, 1951, vol. 167, No. 4246, p. 446—447.
Mulder E. G. Effect of liming of an acid peat soil on microbial activity. Fourth Int Congr. of soil Sci., Amsterdam, 1950, Transact. vol. 2, p. 117—121.
Newbould F. H. S. A simple spinner for roll tubes used in estimating bacterial populations. Canad. J. Res., 1950, vol. 28, No. 12, p. 464—467.
Niklewski M. Přispevek k otázce rozkladu organických látek v půdě. Sbor. Čechosl. Akad. Zem., 1950, vol. 22, No. 2, p. 188—194.
Norén B. Myxobacteria in soils. Use of rabbit dung pellets to detect myxobacteria in soils. Effect of soil treatment of the occurrence of myxobacteria. Nature, London, 1951, vol. 167, No. 4241, p. 225—227.
Pinck L. A. and Allison F. E. Resistance of a protein-montmorillonite complex to decomposition by soil microorganisms. Science, 1951, vol. 114, No. 2953, p. 130—131.
Plotho O. Die Humusbildung der Mikroorganismen. Z. Pflanzenern., Düngung-, Bodenkunde, 1950, Bd. 51 (96), H. 3, 212—224.
Pochon J. et Chalvignac M. A. Une espèce bactérienne nouvelles isolée du sol: Endosporus filamentosus n. sp., C. R. Ac. Sci., Paris, 1951, t. 232, No. 1, p. 123—125.
Pochon J., Lajudie J. et Coppier O. Remarques sur les recherches relatives à l'action de certaines substances antiparasitaires sur la microflore du sol. Ann. Inst. Pasteur, 1951, t. 80, No. 5, p. 517—519.
Prévot A. R. et Pochon J. Etude de l'amylolyse bactérienne dans le sol par la méthode de la colonne de terre amidonnée. Ann. Inst. Pasteur, 1951, t. 80, No. 6, p. 672—674.
Purchase H. E., Vincent J. M. and Ward L. M. The field distribution of strains of nodule bacteria from species of Medicago. Australian. J. Agr. Res., 1951, vol. 2, No. 3, p. 261—272.
Rosenblum E. D. and Wilson P. W. Molecular hydrogen and nitrogen fixation by Clostridium. J. Bacter., 1950, vol. 59, No. 1, p. 83—91.
Rossenblum E. D. and Wilson P. W. The utilization of nitrogen in various compounds by Clostridium pasteurianum. J. Bacter., 1951, vol. 61, No. 4, p. 475—480.
Rouatt J. W. and Atkinson R. G. The effect of the incorporation of certain cover crops on the microbiological balance of potato scab infested soil. Canad. J. Res., Sect. C, Bot. Sci., 1950, vol. 28, No. 1, p. 140—152.
Schmidt E. L. Soil microorganisms and plant growth substances. I. Historical. Soil Sci., 1951, vol. 71, No. 2, p. 129—140.
Schmidt E. L. and Starkey R. L. Soil microorganisms and plant growth substances. II. Transformation of certain B-vitamins in soil. Soil. Sci., 1951, vol. 71, No. 3, 221—231.
Siminoff P. and Gottlieb D. The production and rôle of antibiotics in the soil. I. The fate of streptomycin. Phytopath., 1951, vol. 41, No. 5, p. 420—430.
Skinner F. A. The growth of species of Streptomyces in soil. Fonrth Int. Congr. Soil. Sci., Amsterdam, 1950, Transact., vol. 2, p. 127—129.
Skinner F. A. A method of distinguishing between viable spores and mycelial fragments of actinomycetes in soils. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 1, p. 159—166.
Stárka J. and Musilek V. Study of the aerobic bacteria and fungi participating in decomposition of cellulose in the soil. Studia Bot. Čechoslovaca, 1950, vol. II, No. 4, p. 191—197.

Subramanian C. V. Soil conditions and wilt diseases in plants with special reference of Fusarium vasinfectum on cotton. Proc. Indian Acad. Sci., Sect. B, 1950, vol. 31, No. 2, p. 67—102.
Subramanian C. V. Fusaria isolated from South Indian soils. Nature, 1951, vol. 168, No. 4274, p. 761.
Sylvestre G., Boischot P. et Quillon P. Fixation de l'azote minéral par les micro-organismes décomposant les pailles de céréales dans le sol. C. R. Ac. Sci., Paris, 1951, т. 232. No. 5, p. 436—438.
Thornton H. G. and Kleczkowski J. Use of antisera to identify nodules, produced by inoculation of legumes in the field. Nature, London, 1950, vol. 166, No. 4235, p. 118—119.
Timonin M. I. Soil microflora and manganese deficiency. Fourth Int. Congr. of Soil Sci., Amsterdam, 1950, Transact., vol. 3, p. 97—99.
Timonin M. I. Soil microflora in relation to manganese deficiency. Sci. Agric. (Ottawa), 1950, vol. 30, No. 7, p. 324—325.
Todd F. A., Lucas G. B. and Moore E. L. Chemical treatment of tobacco plant bed soils for weed and disease control. Phytopath., 1950, vol. 40, No. 1, p. 29.
Toole E. R. Soil treatments against the mimosa wilt Fusarium. Phytopath., 1950, vol. 40, No. 8, p. 791.
Treccani V. Oxidative activity of soil microorganism. Fourth Int. Congr. Soil Sci., Amsterdam, 1950, Transact., vol., I, p. 186—188.
Truszkowska W. Badania nad mykotrofismem oraz zavartóscią glukozydów u trzech gatunków Digitalis z naturalnych i sztrucznych stanowisk. Lublin, 1950, p. 279—305 (Annales Universitatis Mariae Curie-Składowska. Lublin — Polonia. Sectio C. vol. 5, 8).
Vilas L. and Gonzales G. Viability of Anthracis bacillus spores according to different characteristics of the soil. Fourth Int. Congr. Soil Sci., 1950, Amsterdam, Transact., vol. I, p. 206—207.
Wallace R. H. and Lochhead A. G. Qualitative studies of soil microorganisms. IX. Amino acid requirements of rhizosphere bacteria. Canad. J. Res. Sect. C, Bot. Sci., 1950, vol. 28, No. 1, p. 1—6.
Warcup J. H. The ecology of soil fungi. Trans. Brit. Mycolog. Soc., 1951, vol. 34, part 3, p. 376—399.
Warcup J. H. Studies on the growth of Basidiomycetes in soil. Ann. Bot., N. S., 1951, vol. 15, No. 59, p. 305—317.
Wilhelm S. Verticillium wilt in acid soil. Phytopath., 1950, vol. 40, No. 8, p. 776—777.
Wilhelm S. Effect of various soil amendments on the inoculum potential of the Verticillum wilt fungus. Phytopath., 1951, vol. 41, No. 8, p. 684—690.
Wilhelm S. Is Verticillium albo-atrum a soil invader or a soil inhabitant? Phytopath., 1951, vol. 41, No. 10, p. 944—945.
Winter A. G. Neue Gesichtspunkte in der Bodenmikrobiologie. Ztbl. Bakt., Parasitenk., 1950, Bd. 155, H. 8, S. 342—351.
Winter A. G. Untersuchungen über die Ökologie und den Massenwechsel bodenbewohnender mikroskopischer Pilze. I. Die Bedeutung organischer Nährstoffé für die Entwicklung von Ophiobolus graminis in der Rhizosphäre und im freien Boden. Archiv Mikrobiol., 1950, Bd. 15, H. I, S. 42—71.
Winter A. G. Weitere Beobachtungen über das Zusammenleben von Ophiobolus graminis und anderen Bodenmikroben mit Hilfe der Aufwuchsplatten. Archiv Mikrobiol., 1950, Bd. 14, H. 4, S. 588—593.
Winter A. G. und Rümker R., von. Die Mikroflora der Rhizosphäre als resistenzbestimmender Faktor. Archiv. Mikrobiol., 1950, Bd. 15, H. I, S. 72—84.
Winter A. G. und Willeke L. Über die Aufnahme von Antibioticis durch höhere Pflanzen und ihre Stabilität in natürlichen Böden. Naturwissenschaften, 1951, H. 19, S. 457—458.
Winter A. G. und Willeke L. Untersuchungen über Antibiotica aus höheren Pflanzen und ihre Bedeutung für die Bodenmikrobiologie und Pflanzensoziologie. Naturwissenschaften, 1951, H. II, S. 262—264.

б. Микробиология кормов

Perkins A. E. and Pratt A. D. A laboratory silo and its uses. J. Dairy Res., 1951, vol. 34, No. 6, p. 606—614.
Rasmussen R. A., Smiley K. L., Anderson J. G. Microbial synthesis and multiple nature of Lactobacillus bulgaricus factor. Possible rôle in chick nutrition. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 1950, vol. 73, No. 4, p. 658—660.
Thomas R. C. Microbiology of silage. Ohio Agric. Exp. Sta. Res. Circ., 1950, vol.2, p. 1—19.
Wolff W. Trockenhefe als wertvolles Eiweissfutter in der Schweinemast. Tierzucht, 1951, Jrg. 5, Nr. 5, S. 127—131.

Wurtz B. et Mursch R. Changements de propriétés biochimiques et morphologiques des bactéries lactiques de l'ensilage. I. Conditions de la transformation. C. R. Ac. Sci., Paris, 1951, t. 233. No. 4, 327—328.
Wurtz B. et Mursch R. Changements de propriétés biochimiques et morpohologiques des bactéries lactiques de l'ensilage. II. Hypothèse sur la nature de phénomène. C. R. Ac. Sci., Paris, 1951, t. 233, No. 5, p. 456—458.

III. ПИЩЕВАЯ И ТЕХНИЧЕСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Adams S. L. and Hungate R. E. Continuous fermentation cycle times: prediction from growth curve analysis. Indust. and Engineer. Chem., 1950, vol. 42, No. 9, p. 1815—1818.
Äebi H. Über den Einfluss der Phosphatkonzentration auf die von Clostridium butylicum (Beij.) Donker bewirkte Butanol-Isopropanol-Gärung. Schweiz. Ztschr. Path. u. Bakt., 1950, Bd. 13, Nr. 5, S. 554—559.
Alford J. A. and Frazier W. C. Effect of micrococci on the development of flavor when added to cheddar cheese made from pasteurized milk. J. Dairy Sci., 1950, vol. 33, No. 2, p. 115—120.
Alford J. A. and Frazier W. C. The occurrence of micrococci in cheddar cheese made from raw and from pasteurized milk. J. Dairy Sci., 1950, vol. 33, No. 2, p. 107—114.
Andersen A. J. C. Bacteriology in the margarine industry. Dairy Indust., 1951, vol. 16, No. 4, p. 341—346.
Aschehoug V. and Jansen F. Studies on putrefactive anaerobes as spoilage agents in canned foods. Food Res., 1950, vol. 15, No. 1, p. 62—67.
Bannink H. F. and Muller F. M. On the sensitivity of the methane fermentation of calcium acetate towards some toxic substances. Antonie van Leeuwenhoek, 1951, vol. 17, No. 3, p. 171—182.
Bartholomew W. H., Karow E. O., Sfat M. R. and Wilhelm R. H. Oxigen transfer and agitation in submerged fermentation, mass transfer of oxygen in submerged fermentation of Streptomyces griseus. Industr. and Engineer. Chem., 1950, vol. 42, No. 9, p. 1801—1809.
Bartholomew W. H., Karow E. O., Sfat M. R. and Wilhelm R. H. Oxygen transfer and agitation in submerged fermentations, effect of air flow and agitation rates upon fermentation of Pencicillium chrysogenum and Streptomyces griseus. Indust. and Engineer. Chem., 1950, vol. 42, No. 9, p. 1810—1815.
Bartholomew W. H., Karow E. O. and Sfat M. R. Design and operation of a laboratory fermentor. Indust. and Engineer Chem., 1950, vol. 42, No. 9, p. 1827—1830.
Basu S. N. and Ghose S. N. Fungi growing on jute. J. Sci. and Indust. Res., 1950, vol. 9 B, No. 6, p. 151—156.
Baumgartner J. G. Canned foods. An introduction to their microbiology. London, Churchill., 1950, 278 pp.
Bertrand G. et Silberstein L. La fermentation du sucre par la levure, produit-elle normalement du méthanol? C. R. Ac. Sci., Paris, 1950, t. 230, No. 9, p. 800—803.
Bhat J. V. and Sethna K. Microflora of ghee. Indian. Y. Dairy Sci., 1950, vol. 3, No. 1, p. 12—15.
Bienvenu R. and McCleskey. C. R. The amino acid requirements of Leuconostoc mesenteroides isolated from sugar cane juice. Proc. Lousiana Acad. Sci., 1950, vol. 13, p. 13—18.
Blackwood A. C. and Simpson F. J. Production and properties of 2, 3-Butanediol. XXXVII. A study of factors affecting the Bacillus subtilis fermentation. Canad. J. Res., 1950, Sect. C, vol. 28, No. 6, p. 613—622.
Blau T. Bakteriostatische Wirkung von Milchsäurestreptokokken auf Buttersäurebazillen. Milchwissenschaft, 1950, Bd. 5, Nr. 5, S. 149—153.
Blin H. La microbiologie et la conservation de vins. La Nature, 1951, No. 3197, p. 285.
Bolcato V., Scevola M. E. and Bettinetti G. F. Simultaneous fixation of trioses and pyruvic acid in butyl alcohol fermentation with living cells. Arch. Biochem., 1950, vol. 29, No. 2, p. 291—294.
Bolcato V., Scevola M. E. and Bosso M. Pyruvic acid intermediate product in acetate oxidation by yeast. Exper., 1951, vol. 7, fasc. 2, p. 69—71.
Brown W. E. and Peterson W. H. Penicillin fermentations in a Waldhof-type fermentor. Indust. and Engineer. Chem., 1950, vol. 42, No, 9, p. 1823—1826.
Bure J. Le contrôle des levures de panification française. Rev. fermentat. industr. aliment., 1950, t. 5, No. 4, p. 111—120.
Buttiaux R. et Kesteloot A. Sur l'examen bactériologique des laits pasteurisés certifiés . Ann. Inst. Pasteur, Lille, 1950, vol. 3, p. 35—63.
Cameron E. J. Report on microbiological methods for detecting and estimating thermophilic bacteria in sugar. J. Assoc. of Agricult. Chemists, 1950, vol. 33, No. 3, p. 744—745.

Chandrasekhar C. V. Effect of refrigeration on the micropopulation of raw and pasteurized milk. Indian J. Dairy Sci., 1950, vol. 3, No. 4, p. 173—178.
Cohn E. G. Koliforme bakterier i kogodning g ra maelk. Nordisk Veterinaermed., 1950, vol. 2, 209—236.
Conn J. F., Johnson J. A. and Miller B. S. An investigation of commercial fungal and bacterial alpha-amylase preparations in baking. Cereal Chemistry, 1950, vol. 27, No. 3, p. 191—205.
Cordon T. C., Treadway R. H., Walsh M. D. and Osborne M. F. Lactic acid from potatoes. Indust. and Engeneer. Chem., 1950, vol. 42, No. 9, p. 1833—1836.
Corman J. and Tsuchiya H. M. Utilization of fungal amylase for alcohol production. Cereal Chemistry, 1951, vol. 28, No. 4, p. 280—288.
Cristophersen J. Untersuchungen über den Purinstickstoffgehalt von Milchzuckerhefen. Milchwissenschaft, 1950, vol. 5, Nr. 2, S. 55—56.
Crosman R. Yogurt reported to contain organisms which increase life span. Food in Canada, 1950, vol. 10, No. 4, p. 42—46.
Curran H. B. and Evans F. R. Quaternary ammonium compounds as sterilizing agents for bacterial spores. J. Dairy Sci., 1950, vol. 33, No. 1, p. 1—15.
Dagley S., Dawes E. A. and Morrison G. A. The effect of aeration on the growth of Aerobacter aerogenes and Escherichia coli with reference to the Pasteur mechanism. J. Bacteriol., 1951, vol. 61, No. 4, p. 433—441.
Dahlberg A. C., Kosikowsky F. V., Seeley H. W. and Leuenthal A. A. The sanitizing of milking machines. J. Milk and Food Technol., 1950, vol. 13, No. 1, p. 5—18, 24.
Damm H. Fortschritte auf dem Gebiete der industriellen Mikrobiologie. Ztbl. Bakt. Parasitenk., 1950, Bd. 155, H. 8, S. 337—338.
Demmler G. Molkerhefung nach dem Waldhof-Verfahren. Milchwissenschaft, 1950, Bd. 5, Nr. 1, S. 11—17.
Dick J. H. Cleaning and sterilising in the dairying industry. Australian J. Dairy Technol., 1950, vol. 5, No. 1, p. 35—40.
Dodge B. O. A fungus capable of parasitizing wharf-pulling borers. Bull. Torrey Botan. Club, 1951, vol. 78, No. 3, p. 201—205.
Drury A. R., Bryan C. S. and Hutton J. P. A biochemical and bacteriologic study of mare's milk. J. Amer. Vet. Med. Assoc., 1950, vol. 117, No. 883, p. 303—305.
Egdell J. W. and Bird E. R. Determination of thermoduric organisms in rinses of dairy equipment. Dairy Indust., 1950, vol. 15, No. 5, p. 511—513, 527.
Egdell J. W. and Bird E. R. Bacteria in pasteurized milk. Dairy Indust., 1951, vol. 16, No. 2, p. 143—147, 156.
Емануилов И. Бактерийните протеази и тяхното приложение в сиренарство. София, Изд. на Българската акад. на наук., 1951. 17 стр. (Блгарска акад. на науките. Микробиологический ин-т.).
Etchells J. L. and Bell T. A. Classification of yeasts from the fermentation of commercially brined cucumbers. Farlowia, 1950, vol. 4, No. 1, p. 87—112.
Etchells J. L. and Bell T. A. Film yeasts on commercial cucumber brines. Food Technol., 1950, vol. 4, No. 3, p. 77—83.
Fabian F. W. and Wethington M. C. Bacterial and chemical analysis of mayonnaise, salad dressing and related products. Food Res., 1950, vol. 15, No. 2, p. 138—145.
Fabian F. W. and Wethington M. C. Spoilage in salad dressing and French dressing due to yeasts. Food Res., 1950, vol. 15, No. 2, p. 135—137.
Federico L. Sull'origine dell'acido succinico nella fermentazione alcoolica. Ann. Chim., 1950, vol. 40, p. 644—646.
Finn R. K., Halvorson H. O. and Piret E. L. Lactic acid fermentation rate: effect continuosly controlled pH. Indust. and Engineer. Chem., 1950, vol. 42, No. 9, p. 1857—1861.
Foley E. J. and Byrne J. V. Penicillin, as an adjunct to the pasteurization of quality of raw and pasteurized milk. J. Milk and Food Technol., 1950, vol. 13, No. 3, p. 170—174.
Foltz V. D. and Lord T. H. Bacteriologic studies on margarine. Food Res., 1951, vol., 16, No. 3, p. 216—221.
Galesloot Th. E. An early gas defect in cheese caused by Betacoccus (Leuconostoc) species. With some remarks about the nomenclature of Betacoccus (Leuconostoc) species. Nederlands Melk en Zuiveltijdschr., 1950, vol. 4, Nr. 4, p. 274—287.
Genevois L. Acides organiques des vins: diagnostic de l'histoire microbiologique d'un vin d'après sa constitution chimique. Rev. Fermentat. Industr. Aliment., 1951, t. 7, No. 2, p. 43—47.
Gibbs M. and DeMoss R. D. A new mechanism of ethanol formation in the heterolactic fermentation. Federat. Proc., 1951, vol. 10, No. 1, part I, p. 189.
Gibbs M., Dumrose R., Bennett F. A. and Bubeck M. R. On the mechanism of bacterial fermentation of glucose to lactic acid studied with C^{14}-glucose. J Biol. Chem., 1950, vol. 184, No. 2, p. 545—549.

Godbersen G. Die Beziehungen zwischen der Tätigkeit der Milchsäurebakterien und dem Kochsalz bei der Käsebereitung. Milchwissenschaft, 1950, Bd. 5, Nr. 11, S. 379—382.
Gopalakrishna B. N. and Iya K. K. Studies on the coliform bacteria in milk. II. Biochemical activity in milk. Indian J. Dairy Sci., 1951, vol. 4, No. 1, p. 1—7.
Goresline H. E. Report on microbiological methods for frozen fruits and vegetables. J. Assoc. Offic. Agricult. Chemists, 1950, vol. 33, No. 3, p. 744.
Gottlieb S., Day W. C. and Pelczar M. The biological degradation of lignin. II. The adaptation of white-rot fungi to growth on lignin media. Phytopath., 1950, vol. 40, No. 10, p. 926—935.
Gottlieb S. and Pelczar M. J., jr. Microbiological aspects of lignin degradation. Bacter. Rev., 1951, vol. 15, No. 2, p. 55—76.
Green S. R. and Gray P. P. A differential procedure for bacteriological studies useful in the fermentation industry. Archives of Biochem., 1951, vol. 32, No. 1, p. 59—69.
Grindrod J. A swedish method of wood preservation. Chem. and Industr., 1950, No. 38, p. 668.
Henry R. E., Strodtz N. H. and Murdock D. I. An exploratory study of respiration rates of microorganisms in orange juice as a possible index of population Food Technol., 1951, vol. 5, No. 6, p. 233—237.
Hietaranta M. och Gyllenberg H. Undersökningar över bakterieväxtens och redoxpotentialens roll vid uppkomsten av diacetyl och acetylmetylkarbinol i mjölk. Svenska Mejeritidningen, 1950, vol. 42, No. 19, p. 217—220; No. 20, p. 227—229.
Hixson A. W. and Gaden E. L., jr. Oxygen transfer in submerged fermentation. Indust. and Engineer. Chem., 1950, vol. 42, No. 9, p. 1792—1801.
Hochster R. M. and Quastel J. H. The effect of nicotinamide and fermentations by fresh and by acetone-dried powders of cell-free yeast extracts. Archives of Biochem., 1951, vol. 31, No. 2, p. 278—284.
Horrall B. E. and Elliker P. R. An activity test for cheddar and cottage cheese starters. J. Dairy Sci., 1950, vol. 33, No. 5, p. 245—249.
Horrall B. E., Elliker P. R. and Kensler G. The use of reconstituted nonfat dry milk solids for propagating mother and batch starter cultures. J. Dairy Sci., 1950, vol. 33, No. 5, p. 250—256.
Hromatka O. und Ebner H. Untersuchungen über die Essiggärung. II. Sauerstoffmangel der Fesselgärung. Enzymologia, 1950, vol. 14, Fasc. 2, p. 96—106.
Hucker G. J. and Robinson W. B. Bacteria in frozen vegetables. Food in Canada, 1951, vol. 11, No. 3, p. 14—15.
Humphriss E. L. E. A modified frost little plate method for routine bacteriological control of milk. Dairy Indust., 1950, vol. 15, No. 4, p. 420—422.
Hunter G. J. E. The growth requirements of lactobacilli in relation of cheese flavour development. J. Dairy Res., 1950, vol. 17, No. 1, p. 79—80.
Iya K. K. and Frazier W. C. Associative growth of Streptococcus lactis and Aerobacter aerogenes in milk. J. Dairy Sci., 1951, vol., 34, No. 9, p. 879—886.
Jensen C. and Patch E. Factors affecting bacteria count of raw milk. Bimo, Bull. N. Dakota Agric. Expt. Sta., 1950, vol. 13, No. 1, p. 21—23.
Johns C. K. Bacteriological analysis of edible gelatin. Food Res., 1951, vol. 16, No. 3, p. 281—287.
Kannan A. and Basu K. P. Energy of activation of hydrolysis of sodium phenyl phosphate by milk phosphatase and on the inactivation of the anzyme by heat. Indian J. Dairy Sci., 1951, vol. 4, No. 1, p. 8—15.
Keipper C. H. Five keys to growing nutritional yeast. Food Indust., 1950, vol. 22, No. 8, p. 1375—1380.
Kempe L. L., Halvorson H. O. and Piret E. L. Effect of continuously controlled pH on lactic acid fermantation; yield and conversion. Indust. and Engineer. Chem., 1950, vol. 42, No. 9, p. 1852—1857.
Kennedy L. and Weiser H. Some observations on bacteria isolated from milk that grow within a psychrophilic temperature range. J. Milk and Food Technol., 1950, vol. 13, No, 6, p. 353—357.
Kiessling W. Triosephosphorsäure als Intermediärprodukt bei der Zuckergärung mit intakter Hefe. Biochim. Biophys. Acta, 1950, Bd. 4, Nr. 1/2/3, S. 193—198.
Kolachov P., Smith L. A. et Willkie H. F. Le procédé continu dans les fermentation industrielles. Rev. Fermentat. Indust. Aliment., 1950, t. 5, No. 5, p. 154—159.
Lambion R. et Wiame J. M. Cultures pures d'acetobacter dans les conditions d'acétification rapide. Rev. Ferment. Indust. Aliment., t. 6, No. 1, 1951, p. 25—27.
Lampen J. O. Observations on the mechanism of fermentation of 1-C^{14}-D-xylose by Lactobacillus pentosus. J. Bacter., 1951, vol. 61, No. 1, p. 97—98.
Lemoigne M. Sanchez G. et Millet J. Recherches sur l'arome des beurres. C. R. Ac. Agric. France, 1950, t. 36, No. 6, p. 217—219.
Levine B. S. Improving staining procedures in the direct microscopic examination of milk. Bact. Proc., 1950, p. 56.

Lineham G. E. K. Apparatus for studies on disinfection of milking machine teat cups. J. Dairy Res., vol. 1950, vol. 17. No. 1, p. 50—53.
Loncin et Geairain J. La virulence du Mycobacterium tuberculosis dans le fromage blanc. Rev. Fermentat. Indust. Aliment., 1950, t. 5, No. 3, p. 92—94.
Lüthi H. Über das Lindwerden der Weine. Schweiz. Z. Obst- u. Weinbau, 1950, Nr. 8, S. 149—153; Nr. 9, S. 165—169.
McEwen E. D. and White M. B. Variations in the bactericidal and bacteriostatic properties of milk. Vet. Rec., 1950, vol. 62, No. 3, p. 27—30.
McKenzie D. A. Bacteriological testing of designated milk. Scottish Agric., 1950, vol. 30, No. 3, p. 130—134.
Maltschewsky N. und Partmann W. Zur Frage der Keimfreiheit der Muskulatur lebender Süsswasserfische. Arch. Mikrobiol., 1951, Bd. 16, H. 3, S. 252—269.
Marcilla J. y Hidalgo L. Posibilidad de fabricar levaduras prensadas sobre prehidrolizados de residuos agricolas. Microbiol. Española, 1950, vol. 3, No. 2, p. 125—130.
Marsden D. H. Studies of Hormodendrum resinae Lindau, a common inhabitant of creosoted and coal-tar-treated wood. Phytopath., 1951, vol. 41, No. 7, p. 658—659.
Martius C. und Lynen F. Probleme des Citronensäurecyklus. Advances in enzymology, 1950, vol. 10, p. 167—222.
Mathy M. C. Progrès dans la fabrication du vinaigre. Rev. Fermentat. Indust. Aliment., 1950, t. 5, No. 5, p. 147—153.
Merzari A. H. y Molina J. S. Influencia del aceite esencial de hinojo en el proceso fermentativo de aceitunas verdes «Tipo Español». II. Accion inhibitoria sobre desarrollox de Aerobacter aerogenes. Rev. Argentina Agron., 1950, vol. 17, No. 4, p. 241—248.
Meyerhof O. and Kaplan A. The speed-controlling reactions in fermentation of quickly dried yeast. Archiv. Biochem., 1951, vol. 33, No. 2, p. 282—298.
Mossel D. A. A. Investigation of a case of fermentation in fruit products, rich in sugars. Antonie van Leeuwenhoek, 1951, vol. 17, No. 3, pp. 146—152.
Mundt J. O. and Kitchen H. M. Taint in southern country-style hams. Food Res., 1951, vol. 16, No. 3, p. 233—238.
Murdock D. I. Inhibitory action of citric acid on tomato juice flatsour organisms. Food Res., 1950, vol. 15, No. 2, p. 107—113.
Neuberg C. Gärung und phytochemische Reduktion. Biochim. Biophys. Acta, 1950, Bd. 4, Nr. 1—3, S. 170—178.
Newell G. Cottage cheese provides further source of valuable milk bacteria. Food in Canada, 1951, vol. 11, No. 3, p. 16—18.
Newell G. The secret of yogurt production. Food in Canada, 1951, vol. 11, No. 1, p. 9—14.
Nicol H. Production of ethyl alcohol by agencies other than yeast. Brewers' Guild Journ., 1950, vol. 36, No. 431, p. 354—362.
Norkrans B. Influence of cellulolytic enzymes from hymenomycetes on cellulose preparations of different crystallinity. Physiol. Plantarum, 1950, vol. 3, fasc. 1, p. 75—87.
Oyass J. E., Ehrlich I. and Smith R. M. Chemical changes during chloramphenicol (chloromycetin) fermentation. Indust. Engineer. Chem., 1950, vol. 42, No. 9, p. 1775—1776.
Pan S. C., Andreasen A. A. and Kolachov P. Rate of secondary fermentation of corn mashes converted by Aspergillus niger. Indust. Engineer. Chem., 1950, vol. 42, No. 9, p. 1783—1789.
Pan S. C., Andreasen A. A. and Kolachov P. The rôle of yeast in the secondary conversion of corn mashes converted by submerged cultures of Aspergillus niger. Archiv. Biochem., 1951, vol. 39, No. 1, p. 6—13.
Parker R. B., Smith V. H. and Elliker P. R. Bacteria associated with a gelatinous of slimy curd defect of cottage cheese. J. Dairy Sci., 1951, vol. 34, No. 9, p. 887—893.
Partmann W. und Maltschewsky N. Zur Frage der histologischen Veränderungen in der Muskulatur von Süsswasserfischen während der Lagerung. Ztschr. Lebensmittel-Unters. u. Forsch., 1951, Bd. 93, H. 3, S. 121—130.
Paul T. M. and Shahani K. M. Biochemical studies on the use of different Dahi cultures on acidity development in ghee. Indian J. Dairy Sci., 1950, vol. 3, No. 2, p. 59—67.
Pederson C. S. and Albury M. N. Effect of temperature upon bacteriological and chemical changes in fermenting cucumbers. Bull. New York State (Geneva) Agric. Expt. Sta., 1950, 744, p. 1—31.
Pette J. W. en Lolkema H. Yoghurt. I. Symbiose en antibiose in meng cultures van Lb. bulgaricus en Sc. thermophilus. Nederlands Melk en Zuiveltijdschr., 1950, vol. 4, Nr. 3, p. 197—208.
Pette J. W. en Lolkema H. Yoghurt. II. Croeifactoren voor Sc. thermophilus. Nederlands Melk en Zuiveltijdschr., 1950, vol. 4, Nr. 3, p. 209—224.

Pette J. W. en Lolkema H. Yoghurt. III. Zuurvorming en aromavorming in yoghurt. Nederlands Melk en Zuiveltijdschr., 1950, vol. 4, Nr. 4, p. 261—273.
Phillips G. F. and Mundt J. O. Sorbic acid as inhibitor of scum yeast in cucumber fermentations. Food Technol., 1950, vol. 4, No. 7, p. 291—293.
Pochon J. et Bay. La cellulolyse bactérienne. Importance des techniques pour son étude. Ann. Inst. Pasteur, Paris. 1951, t. 81, No. 2, p. 179—186.
Porges N., Pepinsky J. B. and Jasewicz L. Feed yeast from dairy by-products. J. Dairy Res., 1951, vol. 34, No. 6, p. 615—621.
Proctor B. E., Goldblith S. A. and Fram H. Effect of supervoltage cathode rays on bacterial flora of spices and other dry food materials. Food Res., 1950, vol. 15, No. 6, p. 490—493.
Prouty C. C. Inactivation of bacteriophage of lactic acid streptococci at high and low pH levels. J. Milk and Food Technol., 1950, vol. 13, No. 6, p. 329—331.
Ramachandra R. J. N. and Krishnamachar V. S. Study of different methods for fermentation of sugars by yeasts. J. Sci. a. Indust. Res., India, 1950, vol. 9 B, No. 4, p. 103—104.
Ritter P. Die gegenseitige Beeinflussung von Euterbakterien und einigen käsereitechnisch wichtigen Bakterienstämmen. Landw. Jahrb. Schweiz., 1950, Bd. 64, Nr. 6, p. 579—620.
Rosenfeld B. and Simon E. The mechanism of the butanol-acetone fermentation. I. The rôle of pyruvate as an intermediate. J. Biol. Chem., 1950, vol. 186, No. 1, p. 395—404.
Rosenfeld B. and Simon E. The mechanism of the butanol-acetone fermantation. II. Phosphoenolpyruvate as a new intermediate. J. Biol. Chem., 1950, vol. 186, No. 1, p. 405—410.
Rudolfs W. and Trubnick E. H. Treatment of compressed yeast wastes. Indust. Engineer. Chem., 1950, vol. 42, No. 4, p. 612—615.
Ryman B. E. and Walsh E. O' F. Reversion of the effect of vitamin B_1 on yeast fermentation as a result of growth in the presence of cocaine. Nature, London, 1951, vol. 167, No. 4254, p. 770.
Sackett D. and Gralak G. The value of the coliform count in the routine examination of milk and dairy products. J. Milk a. Food Technol., 1950, p. 350—352.
Scalf R. E. and Stier T. J. B. Effect of commercial malt sprouts on the anaerobic growth of distillers yeast. Trans. Kentucky Acad. Sci., 1950, vol. 13, No. 2, p. 69—77.
Scarr M. P. Osmophilic yeasts in raw beet and cane sugars and intermediate sugar refining products. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 1, p. I.
Scheffer W. R. and Mrak E. M. Characteristics of yeast causing clouding of dry white wines. Mycopath. et Mycol. Appl., 1951, vol. 5, fasc. 2—3, p. 236—249.
Schelhorn M. Untersuchungen über den Verderb wasserarmer Lebensmittel durch osmophile Mikroorganismen. II. Mitt. Grenzkonzentrationen für den osmophilen Schimmelpilz Aspergillus glaucus in Abhängigkeit vom pH Wert des Substrates. Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch., 1950, Bd. 91, H. 5, S. 338—342.
Segalove M. and Dack G. M. Growth of bacteria associated with food poisoning experimentally inoculated into dehydrated meat. Food Res., 1951, vol. 16, No. 2, p. 118—125.
Simpson F. J. and Stranks D. W. Production and properties of 2, 3-butanediol. XXXIV. Some factors affecting the fermentation of beet molasses by Bacillus polymyxa. Canadian J. Technol., 1951, vol. 29, No. 2, p. 87—97.
Siu R. G. H. and Sinden J. W. Effects of pH temperature and mineral nutrition on cellulolytic fungi. Amer. J. Bot., 1951, vol. 38, No. 4, p. 284—290.
Solowey M. and Watson A. J. The presence of Enterococci in spray-dried whole egg powder. Food. Res., 1951, vol. 16, No. 3, p. 187—191.
Speck M. L. and Lucas H. L. Some observations on the high-temperature short-time pasteurization of chocolate milk. J. Dairy Sci., 1951, vol. 34, No, 4, p. 333—341.
Stadtman T. C. and Barker H. A. Studies on the methane fermentation. VIII. Tracer experiments on fatty acid oxidation by methane bacteria. J. Bacter., 1951, vol. 61, No. 1, p. 67—80.
Stadtman T. C. and Barker H. A. Studies on the methane fermentation. IX. The origin of methane in the acetate and methanol fermentations dy Methanosarcina. J. Bacter., 1951, vol. 61, No. 1, p. 81—86.
Stadtman T. C. and Barker H. A. Studies on the methane fermentation. X. A new formate-decomposing bacterium Methanococcus vannielii J. Bacter., 1951, vol. 62, No. 3, p. 269—280.
Stark W. H. and Pohler G. M. Sterile air of industrial fermentations. Indust. a. Engineer. Chem., 1950, vol. 42, No. 9, p. 1789—1792.
Steinke P. K. W. and Foster E. M. Microbial changes in refrigerated liver sausage. Food. Res., 1951, vol. 16, No. 3, p. 245—251.
Strandskov F. B. and Bockelmann J. B. New method for counting the bacterial contaminants of brewers' yeast. J. Inst. Brewing, 1951, vol. 57, No. 2, p. 123—124.

Stumbo C. R., Murphy J. R. and Cochran J. Nature of thermal death curves for P. A. 3679 and Clostridium botulinum. Food Technol., 1950, vol. 4, No. 8, p. 321—326.
Szybalski W. A comparative study of bacteria causing mustiness in eggs. Nature, London, 1950, vol. 165, No. 4201, p. 733—734.
Teixeira C., Andreasen A. A. and Kolachov P. Ethyl alcohol from cassava. Indust. a. Engineer. Chem., 1950, vol 42, No. 9, p. 1781—1783.
Thomas S. B., Griffiths D. G. and Jenkins E. Further observations on ropiness. Dairy Indust., 1950, vol. 15, No. 7, p. 715—718, 720.
Thompson G. I. Coliform bacteria in New Zealand butter. J. Dairy Res., 1950, vol. 17, No. 1, p. 72—78.
Thomson G. I. Pseudomonas putrefaciens in New Zealand butter. J. Dairy Res., 1950, vol. 17, No. 1, p 66—71.
Tombesi L. e Fortini S. Contributo allo studio della fermentazione alcoolica di mosti provenienti da uve normali e con botrytis, in presenza di sali di rame, ferro e manganese. Ricerca Sci., 1950, vol. 20, No. 7, p. 982—991.
Varma K., Laxminarayana H. and Iya K. K. Studies on the spore-forming bacteria in milk. I. The incidence and distribution of spore-forming aerobes in milk and farm materials. Indian J. Dairy Sci., 1950, vol. 3, No. 4, p. 137—146.
Veen A. G., van, and Schaefer G. The influence of the tempeh fungus on the soya bean. Documenta Neerland. et Indonesica Morbis Trop., 1950, vol. 2, No. 3, p. 270—281.
Volk W. A. and Pennington D. The fermentation of inositol. J. Bacter., 1951, vol. 61, No. 4, p. 469—473.
Warren J., Kugler H. and Hall H. M. A portable freeze-drying apparatus employing either mechanical or dry ice refrigeration. J. Immunol., 1951, vol. 67, No. 2, p. 163—166.
Weiser H. H. Survival of certain microorganisms in selected frozen foods. Quick Frozen Foods, 1951, vol. 13, No. 7, p. 50—51.
Wethington M. C. and Fabian F. W. Viability of food-poisoning staphylococci and salmonellae in salad dressing and mayonnaise. Food Res., 1950, vol. 15, No. 2, p. 125—134.
Wiame J. M. et Lambion R. Contribution à l'étude des acetobacters de vinaigrerie rapide du type «Rapide». Rev. Fermentat. Industr. Aliment., 1950, t. 5, No. 6, p. 209—210.
Wiidik R. W. Weissfaule von Huhnereiern, bedingt durch eine neue Achromobacter ammoniagenes. Nordisk Veterin., 1950, Bd. 2, S. 789—811.
Wilharm G. und Holz G. Beitrag zur Kenntnis des Acroleins in Obstbränden, Maischen und Mosten. Isolierung acroleinbildender Mikroorganismen und Erzeugung von Acrolein durch die gewonnenen Reinkulturen. Archiv Microbiol., 1951, Bd. 15, H. S. 403—413.
Wood E. J. F. The bacteriology of shark spoilage. Austral. J. Marine Freshwater Res., 1950, vol. 1, No. 1, p. 129—138.
Wood H. G. and Harris D. L. Fixation of CO_2 in acetic acid by Clostridium thermoaceticum. Federation Proc., 1951, vol. 10, No. 1, part. I, p. 272.
Zarett A. J., Doetsch R. N. and Ahne P. The occurrence of Proteus species in raw and pasteurized milk. J. Milk a. Food Technol., 1950, vol. 13, No. 1, p. 31—34.

(*Продолжение см. т. XXII, № 2*)

СОДЕРЖАНИЕ

Н. А. Красильников, А. И. Кореняко и О. И. Артамонова. Распространение актиномицетов-антагонистов в почвах 3
Я. И. Раутенштейн, А. С. Тихоненко, В. И. Бирюзова и А. М. Золковер. Наблюдения за лизисом актиномицета под влиянием актинофага при помощи электронного микроскопа 11
Ю. П. Нюкша. Физиологическое изучение гриба Gymnoascus setosus Eidam . 15
Е. Л. Рубан. О применении ультразвуковых колебаний в микробиологии . . 23
Р. В. Фениксова. Плесневые грибы из рода Aspergillus как продуценты амилазы. 1. Об амилолитических ферментных системах у двух видов грибов Aspergillus 28
Н. М. Авдиевич. Миксобактерии, лизирующие мицелий Penicillium . . 38
А. Н. Наумова и Е. П. Громыко. Влияние отработанного гумбрина на микрофлору сероземной почвы 43
Г. Н. Блинков. Органические кислоты как продукты углеводного обмена азотобактера 49
К. А. Кирова. Морфологические и культуральные особенности термостойких дрожжей, выделенных из ржаного хлеба 54
Х. Л. Галикеев. О бактерицидных свойствах зеленых листьев растений . . 59
Т. Т. Ованесян. Влияние фитонцидов чеснока на возбудителя мускардины тутового шелкопряда 61
Ф. Е. Немлиенко. О возбудителе бактериоза початков кукурузы 64
А. Е. Крисс. О пригодности для прямого счета мембранных ультрафильтров, выпускаемых для санитарно-бактериологического анализа воды 69
И. М. Шаинская. Выделение и подбор активных культур уксуснокислых бактерий для производства спиртового уксуса 72
В. Ш. Мирзоева и Е. В. Тюнина. О содружестве науки и производства 79
Л. А. Зильбер. О природе вирусов и их происхождении . . . . . : 81
Г. П. Калина. Стадийное развитие микробов — объективная реальность . . 95
Рефераты 108
Критика и библиография 113

Т-00818 Подписано к печати 24.I. 1953 г. Печ. л. 10,96+1 вклейка
Уч.-изд. л. 13,1. Формат бум. 70×108¹/₁₆. Бум. л. 4. Тираж 5800 экз. Заказ 917

2-я типография Издательства Академии наук СССР. Москва, Шубинский пер., д. 10.

Цена 12 руб.

К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ

Статьи, представляемые в редакцию, должны быть тщательно отредактированы в рукописи. Сообщаемые в статье результаты экспериментальных исследований должны быть изложены кратко и ясно, а в конце статьи должны быть выводы. Никакие исправления в корректуре против рукописи не допускаются.

Рукопись, в том числе и литература, должна быть четко переписана на машинке на одной стороне листа писчей бумаги с двумя интервалами. Объем представляемых работ, включая таблицы и литературу, не должен превышать 14—15 страниц, перепечатанных на машинке. С левой стороны листа должны быть оставлены чистые поля (3—4 см). В редакцию посылается первый, перепечатанный на машинке, экземпляр. Страницы рукописи должны быть перенумерованы единой нумерацией, включая основной текст, таблицы, литературу и т. д. Обозначение за одним номером нескольких страниц (например 21а, 21б) не допускается. В конце рукописи, обязательно должны быть собственноручная подпись автора, название учреждения, где выполнена работа, и точный его адрес.

Таблицы должны находиться в соответствующих местах рукописи и в тексте на них должны быть ссылки. Подзаголовки таблиц должны быть краткими, но их необходимо писать полностью, без сокращений.

Количество иллюстраций должно быть минимальным, они должны быть совершенно отчетливыми и выполнены тушью на белой бумаге или на кальке. На полях рукописи указывается место рисунка, а в тексте на него дается ссылка. Фотографии печатаются только при абсолютной их необходимости, причем они должны быть контрастными и в черных тонах. На микрофотографиях должно быть указано увеличение, при котором произведен снимок.

На обороте каждого рисунка должны быть написаны простым карандашом: фамилия автора, заглавие статьи, номер рисунка и страница рукописи, к которой он относится. Подписи к иллюстрациям даются на особом листе с указанием номеров рисунков.

Статья должна содержать результаты собственных исследований автора и поэтому в ней разрешается приводить только очень краткие ссылки на литературу.

Приводить названия цитируемых работ в тексте статьи или в сносках нельзя. Вся литература должна быть сведена в особый список, помещенный в конце статьи. Перечень литературы приводится в алфавитном порядке авторов и нумеруется; для русских и иностранных работ составляются самостоятельные алфавитные списки. Ссылаться на неопубликованные в печати работы и устные сообщения не разрешается.

Отдельные работы одного и того же автора располагаются в хронологической последовательности; в случае наличия у автора нескольких работ, изданных в одном году, они нумеруются строчными буквами алфавита (напр. 1927a, 1927b, 1927c).

В списках литературы должны даваться следующие данные: а) фамилия, б) инициалы, в) название работы, г) сокращенное общепринятое название журнала (для книги — место издания), д) том, страница и год.

Фамилии иностранных авторов при цитировании в статье в первый раз даются как на русском, так и на иностранном языке, а при дальнейших ссылках только на русском языке. Одновременно с фамилией цитируемого автора в скобках указывается его порядковый номер по списку литературы. Помещение в списке литературы всех цитируемых в статье работ — обязательно. Приводить в списке литературы работы, не упоминаемые в тексте, не разрешается.

Сокращение слов, имен, названий, как правило, не допускается. Разрешаются лишь общепринятые сокращения — различных мер, физических, химических и математических величин и терминов и т. п. Все меры должны даваться в метрической системе, а температура по шкале Цельсия.

Рукописи, оформленные без соблюдения настоящей инструкции, будут возвращаться авторам для исправления.

Если автор в связи с вносимыми исправлениями задержит рукопись свыше одного месяца, статья будет считаться в дальнейшем как поступившая вновь.

Редакция